



**T.C.
MEHMET AK F ERSOY ÜN VERS TES
FEN B L MLER ENST TÜSÜ
GIDA MÜHEND SL ANAB L M DALI
YÜKSEK L SANS TEZ**

**BURDUR L NDEK SÜT LETMELER
ÇALI ANLARINDA ASTROV RÜS, NOROV RÜS VE
ROTAV RÜS VARLI ININ ARA TIRILMASI**

Hatice AYDO AN

BURDUR, 2016

T.C.
MEHMET AK F ERSOY ÜN V ERS TES
FEN B L MLER ENST T ÜSÜ
GIDA MÜHEND SL ANAB L M DALI
YÜKSEK L SANS

**BURDUR L NDEK SÜT LETMELER
ÇALI ANLARINDA ASTROV RÜS, NOROV RÜS VE
ROTAV RÜS VARLI ININ ARA TIRILMASI**

Hatice AYDO AN

**Dan, man: Doç. Dr. O uz GÜRSOY
II. Dan, man: Prof. Dr. Mehmet KALE**

BURDUR, 2016

YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

Hatice AYDOĞAN tarafından **Doç. Dr. Ouz GÜRİSOY** ve **Prof. Dr. Mehmet KALE** yönetiminde hazırlanan **Öğretmenlik** **Çalışmaları** **Üzerine** **Astrovirüs, Norovirüs ve Rotavirüs Varlığını Araştırılması** başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/04/2016

Doç. Dr. Ramazan GÖKÇE (Jüri Başkanı)
Pamukkale Üniversitesi, Müh. Fak., Gıda Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Ouz GÜRİSOY (Danışman)
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Müh.-Mim. Fak., Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Mehmet KALE (II. Danışman)
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Yusuf YILMAZ (Jüri Üyesi)
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Müh.-Mim. Fak., Gıda Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Veli GÖK (Jüri Üyesi)
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Müh. Fak., Gıda Mühendisliği Bölümü

ONAY

Bu Tez, Enstitü Yönetim Kurulunun _____ Tarih ve _____ Sayılı Kararı ile Kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. İbrahim İskender SOYASLAN

Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **Burdur'daki Süt İşletmeleri Çalınanlarında Astrovirüs, Norovirüs ve Rotavirüs Varlığına İlişkin Araştırılması** başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışmam, kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmamla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı, ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde de iftihar yapmadığımı,
- Tez çalışmam ve yazmam sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışta bulunmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışmam içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazmamna kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

28 / 04 / 2016

İ İ İ İ İ İ İ İ .

Hatice AYDOĞAN

ÖNSÖZ ve TE EKKÜR

Bu ara t,rma için beni yönlendiren, kar ,la t, ,m zorluklar, bilgi ve tecrübesi ile a mamda yard,mc, olan de erli Dan, man Hocalar,m Doç. Dr. O uz GÜR SOY ve Prof. Dr. Mehmet KALEøye te ekkürlerimi sunar,m. Laboratuvar çal, malar,m s,ras,nda yard,m,n, ve deste ini esirgemeyen de erli hocam Ara . Gör. Sait Hasbi SALTIKøa te ekkür ederim.

0268-YL-15 No`lu Proje ile tez çal, mam, maddi olarak destekleyen Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Ara t,rma Projeleri Koordinatörlü üøne te ekkür ederim.

E itim hayat,m,n her a amas,nda beni her anlamda destekleyen aileme sonsuz sevgi ve sayg,lar,m, sunar,m.

Nisan 2016

Hatice AYDO AN

Ç NDEK LER

	Sayfa
ÖNSÖZ VE TE EKKÜR	i
Ç NDEK LER	ii
EK LLER D Z N	iii
Ç ZELGE D Z N	iv
S MGELER VE KISALTMALAR D Z N	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1. G R	1
2. GENEL B LG LER	4
2.1. Virüslerin Özellikleri.....	4
2.2. Virüslerin Yap,s,	4
2.3. Virüslerin S,n,fland,r,lmas,.....	5
2.4. Gastroenterit Etkeni Olarak Virüsler	6
2.4.1. Astrovirüs	7
2.4.2. Norovirüs	10
2.4.3. Rotavirüs	16
2.5. Enzim Ba l, mmünosorbent Analizi (ELISA).....	20
3. MATERYAL-YÖNTEM	22
3.1. Örneklem ve Materyal	22
3.2. Gaita Örneklerinin Toplanması,	22
3.3. El Swap Örneklerinin Toplanması,	23
3.4. Enzim Ba l, mmünosorbent Analizi (ELISA).....	24
3.4.1. ELISA Yöntemi ile Virüs Antijenlerinin Aranması,.....	25
4. ARA TIRMA BULGULARI.....	29
5. TARTI MA.....	35
8. SONUÇ	38
KAYNAKLAR	39
EKLER	46
ÖZGEÇM	47

EK LER D Z N

	Sayfa
ekil 1.1. Zarfl, virüsün genel yap,s,.....	1
ekil 1.2. Geli mi ve geli mekte olan ülkelerde çocuklarda görülen gastroenterit etkenlerin da ,l,m,.....	3
ekil 2.1. Astrovirüsün elektron mikroskopik görüntüsü	8
ekil 2.2. Norovirüsün geçirimli elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü	11
ekil 2.3. Rotavirüs partiküllerinin geçirimli elektron mikroskopundaki (TEM) görüntüsü	16
ekil 2.4. Çocuklarda gastroenterit etkenlerinin da ,l,m,.....	17
ekil 2.5. Enzim ba l, immünosorbent analizi	21
ekil 3.1. Gaita örneklerinin toplanmas,.....	23
ekil 3.2. El swap örneklerinin toplanmas,.....	24
ekil 3.3. Ara t,rmada kullan,lan Astrovirüs, Norovirüs ve Rotavirüs kitleri.....	26
ekil 3.4. Virüs antijenlerinin aranmas, için ELISA analizlerinin uygulanmas,	27
ekil 3.5. Ara t,rmada kullan,lan ELISA mikropkaka okuyucu.....	28
ekil 4.1. Çal, maya kat,lan personelin cinsiyet da ,l,m, ve ya aral,klar,.....	29
ekil 4.2. Çal, maya kat,lan personelin e itim durumlar,.....	30
ekil 4.3. Mikropkaka sonuç foto raflar,	31

ÇİZELGE DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Virüslerin sınıflandırılması,	6
Çizelge 2.2. Sağlıklı yetişkin gönüllülerde Rotavirüs alından sonra görülen semptomlar ve görülme sıklıkları,	18
Çizelge 3.1. Çalınan maddelerin ticari ELISA kitlerinin içerikleri.....	25
Çizelge 4.1. Çalınan maddelerin, sigara kullanan, hijyen eğitimi alan ve çalınan maddelerde eldiven kullanan personel sayıları,	29
Çizelge 4.2. ELISA mikropkaya okuyucuda el ve gaita süzüntüsü örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri.....	32

S İMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AsV	: Astrovirüs
ELISA	: Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi
EM	: Elektron Mikroskopi
HastV	: İnsan Astrovirüsü (Human Astrovirus)
HRP	: Yaban Turpu Peroksidaz Enzimi
IEM	: İmmün Elektron Mikroskopi
IFA	: İmmünofloresan Antikor
K	: İnternal Kontrol
LA	: Lateks Aglütinasyon
NoV	: Norovirüs
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-PCR	: Ters Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RoV	: Rotavirüs
TM	: Tetrametilbenzidin

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Burdur İlindeki Süt İşletmeleri Çalışanlarında Astrovirüs, Norovirüs, ve Rotavirüs Varlığına İlişkin Araştırılması,

Hatice AYDOĞAN

**Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,**

**Danışman: Doç. Dr. Özgür GÜRSOY
II. Danışman: Prof. Dr. Mehmet KALE**

Nisan, 2016

Astrovirüs (AsV), Norovirüs (NoV) ve Rotavirüs (RoV) insanlarda viral kaynaklı gastroenterit vakalarında en önemli etkenleri arasında görülmektedir. Bu tez çalışması, Burdur il merkezi ve Bucak ilçesindeki 5 farklı süt ve süt ürünleri işletmesinin üretim bölümünde çalışan 47 personelin ellerinden (el ayası, el üstü, el parmak araları, ve el tırnak uçları) alınan swap örneklerinde ve gaitalarında AsV, NoV ve RoV antijenlerinin varlığına ilişkin enzim bağımlı immüno-sorbent analizi (ELISA) ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca araştırmaya katılan personelin yaş, eğitim düzeyi, sigara içme durumu, hijyen eğitimi alınmadıkları, ve eldiven kullanılmaması ile ilgili bilgiler ile çalışmanın yapıldığı dönemde ishal, kusma ve karın ağrısı gibi sindirim sistemi semptomları olup olmadıkları anket ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda 1 personelin gaitasında NoV antijeni tespit edilirken incelenen diğer el swap örnekleri ile gaita örneklerinde AsV, NoV ve RoV virüs antijenlerine rastlanmamıştır. Yapılan anket çalışmasında çalışan 47 personelden 42'sinin sırtla, 4'ünün de nadiren eldiven kullandığı belirlenmiştir. Çalışmaya katılan 47 personelden 7'sinin hijyen eğitimi almadığı, hijyen eğitimi almayanlardan 1 kişinin de eldiven kullanmadığı tespit edilmiştir. Yine gaitasında NoV antijeni tespit edilen personelin hijyen eğitimi almadığı görülmüştür. Sonuç olarak çalışmamızın kapsamında olan gıda işletmelerinde çalışan personel ile çalışılan ortamların virolojik açıdan hijyenik koşullar bakımından uygun ve yeterli olduğu söylenebilir. Ancak bir işletme çalışmasında gaitasında NoV antijeninin tespit edilmesi işletme personeline ve personelin üretim zincirinde özellikle ambalajlama sırasında temas ettiği gıda maddelerine viral bulaşma potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu nedenle gıda işletmelerinde hijyen eğitimi muhtemel enfeksiyon ve salgınların önlenmesi ve iş gücü kayıplarının engellenmesi açısından son derece önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Astrovirüs, Norovirüs, Rotavirüs, ELISA, Süt işletmesi

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0268-YL-15 proje numarası ile desteklenmiştir.

SUMMARY

M.Sc. Thesis

**Investigation of Astrovirus, Norovirus and Rotavirus among Employees of Dairy
Plants in Burdur, Turkey**

Hatice AYDO AN

**Mehmet Akif Ersoy University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. O uz GÜRSOY

Co-Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KALE

April, 2016

Astrovirus (AsV), Norovirus (NoV) and Rotavirus (RoV) are regarded as one of the most important agents responsible for viral gastro-enteritis cases in humans. In this study, swab and stool samples were obtained from forty seven employees working in five dairy plants located in Burdur province and the district of Bucak to determine the prevalence of AsV, NoV and RoV antigens by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Swab samples were obtained from both hands (palm, upper part, sides of fingers and fingernail tips) of employees. In a questionnaire, participants were asked to provide information regarding their gender, age, education level, smoking status, hygiene education status, habits of glove use during working as well as whether they had had digestive problems such as diarrhea, vomiting and abdominal pain in the period of study. Results of the stool analyses indicated that NoV antigen was present in an employee of a dairy plant which was not participated in any hygiene education. AsV and RoV antigens were not present in swap and stool samples of any employee. According to results of the questionnaire, 42 of the 47 employees frequently used gloves while 4 employees used gloves rarely. It was determined that 7 of 47 staff was not in participated any hygiene education, and 1 of those 7 staff did not use gloves during working. It can be concluded that hygiene in the working environment and personnel in these dairy plants were sufficient and appropriate from viral perspective. However, detection of NoV antigen in a staff of a dairy plant shows that there is the high viral contamination potential for employees of dairy plants. Thus, hygiene education in food processing plants to prevent possible viral infections and outbreaks and prevent to loss of workforce is extremely important.

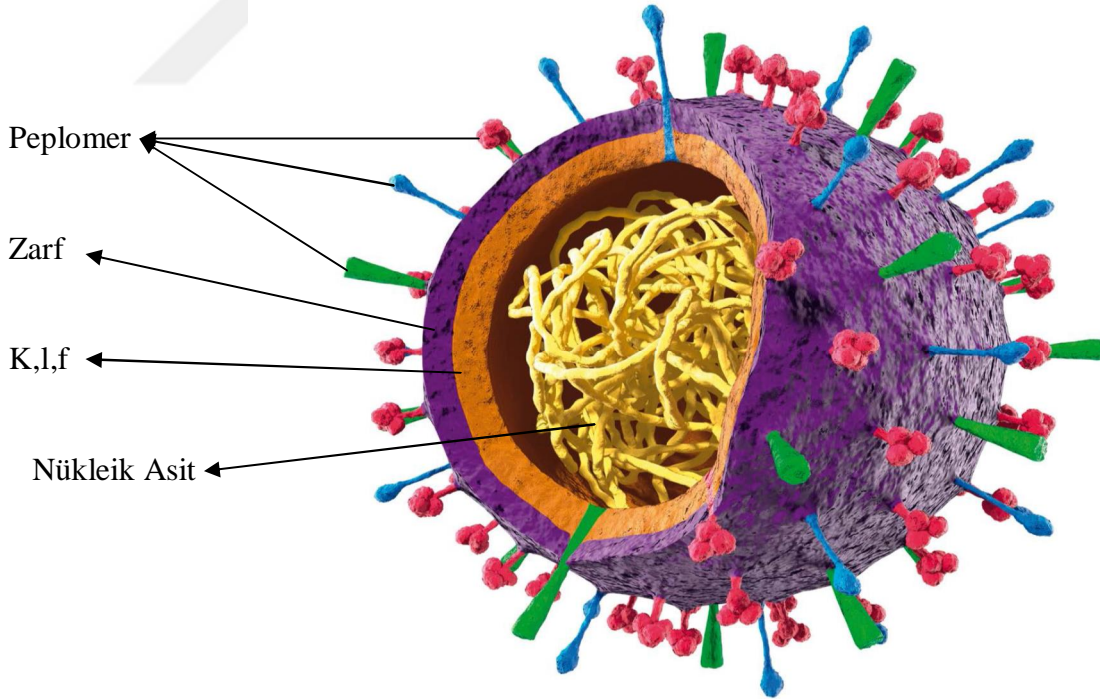
Keywords: Astrovirus, Norovirus, Rotavirus, ELISA, Dairy plant

The present M.Sc. Thesis was supported by Coordinatorship of Scientific Research Projects of Mehmet Akif Ersoy University under the Project number of 0268-YL-15.

1. G R

Virüsler ço unlukla nükleik asitler ve proteinlerden olu an ve birçok salg,n hastal, n olu umundan sorumlu büyük moleküler yap,lard,r. Bakterilerin tersine kendilerine özgü bir metabolizmalar, olmayan virüsler, sadece canl, hücrelerde ço alabilen zorunlu hücre içi parazitlerdir. Ço almalar, için konakç, hücrenin enerjisini, aminoasitlerini ve nükleotidlerini kulland,klar, için serseri genler olarak da tan,mılanmaktadır (Kalaycı, o lu ve di erleri, 2000; Öztürk, 2002; Hasöksüz, 2016).

Virüs yap,s,ndaki yüzey ç,k,nt,lar, olan peplomerler, virüse enfekte edici özellik kazand,ran ç,k,nt, ekindeki glikoproteinlerdir ve virus k,l,f,n,n bir k,sm,n, olu turmaktadır. Lipitlerden olu an zarf protein k,l,f, kaplamaktadır. Proteinlerden olu an bir tabaka olan virüs k,l,f,, içerisinde nükleik asidi bar,nd,rmakta ve virüse ekil kazand,rmaktadır. Virüs yap,s,ndaki kal,tsal materyal olan nükleik asit (RNA veya DNA) ço alma için gerekli bilgileri içermektedir (ekil 1.1) (Çelik, 2014).



ekil 1.1. Zarfl, virüsün genel yap,s, (Çelik, 2014)

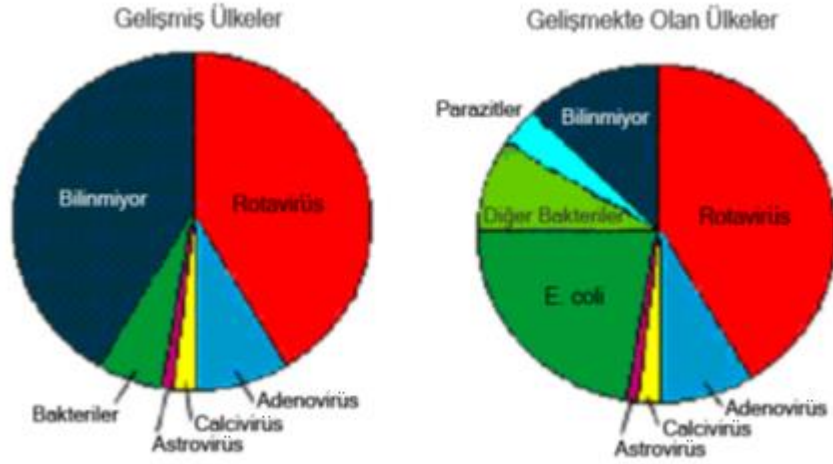
Virüsler, tüm dünyada çocukluk ça , ishallerinde en s,k kar ,la ,lan enfeksiyon ajanlar,ndan olup, dünya genelinde be ya alt, ölüm s,ralamas,nda perinatal hastal,klar ve

alt solunum yolu enfeksiyonlarından sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Altın, 2006; WHO, 2008; Özdemir vd., 2010; Gülen ve Hacımustafaoğlu, 2013; Akhter vd., 2014). Yenidogan ve küçük çocuklarda viral gastroenterit etkenleri arasında rotavirüs (RoV)lar ilk sırada bulunmaktadır. Enterik adenovirüs (serotip 40/41), astrovirüs (AsV)lar, sapovirüsler, norovirüs (NoV)lar ve calicivirüsler ile yeni tanımlanan bazı pikornavirüsler [Aichi virüs (AiV), parechovirüs (PeV), enterovirüs (EV)] de gastroenterit ile ilişkili diğer etkenler arasında sıralanmaktadır (Özdemir vd., 2010).

Gıda ve su kaynaklı akut gastroenteritler, enfeksiyöz ajanların oluşturduğu toksinlere bağlı olarak gelişmektedir. Gıda zehirlenmelerine bağlı akut gastroenteritler, bakteriyel toksinlere (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli* enterotoksinleri gibi), bakteri (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Brucella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Vibrio*, *Listeria* gibi), virüs (NoV, RoV, calicivirüs, AsV gibi) ve parazit (*Giardia*, Siklospora, kriptosporidyum, tenya, toksoplazma, trikinella gibi) enfeksiyonlarına bağlı olarak gelişmektedir (Scallan vd., 2011; Gülen ve Hacımustafaoğlu, 2013).

Akut gastroenteritlerin tanımlanmasında semptomlar yol gösterse de kesin tanı için laboratuvar desteğine ihtiyaç vardır. Viral gastroenteritlerin tanımlanmasında en çok gaitada viral antijenlerin tespitine dayanan enzim bağımlı immunosorbent analizi (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA) ve lateks aglütinasyonu (LA) testi kullanılmaktadır. RoV, NoV, sapovirüs, AsV ve adenovirüsün birlikte tespiti için ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) testleri de geliştirilmiştir (Goueva vd., 1991).

Viral gastroenterit etkenleri, mevsim ve yaş grubu faktörlerine göre farklılık göstermekle birlikte her coğrafik bölgede görülebilmekte ve bazen ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Şekil 1.2). Özellikle çocuklarda ölümlere kadar varan ciddi enfeksiyonlar görülebilmektedir. Bu nedenle sık görülen viral gastroenterit etkenlerini rutin tanımlama tespit edecek tanımlama sistemleri ilgili laboratuvarlarda bulunmalı, ve gastrointestinal enfeksiyonların tanımlanmasında kullanılmalıdır (Özdemir vd., 2013).



ekil 1.2. Geli mi ve geli mekte olan ülkelerde çocuklarda görülen gastroenterit etkenli inin da ,l,m, (Alt,ndi , 2006)

AsV, NoV ve RoV antijenlerinin aranması, genellikle bebek ve çocukların gaita örneklerinde yo unla m, t,r. shal, kusma ve ate gibi semptomlara yol aç,p zaman zaman salg,nlara neden olabilecek zoonotik özelli i olan AsV, NoV ve RoV antijenlerinin g,da zincirinde ve özellikle süt ürünleri i leme tesislerinde çal, an bireyler üzerinde aranması, konusunda ülkemizde yapılan çal, malar oldukça s,n,rl,d,r. Bu çal, mada Burdur il merkezi ve Bucak ilçesinde kurulu baz, süt ve süt ürünleri i letmelerinde çal, an personelin el swap örnekleri ve gaitalar,nda AsV, NoV ve RoV antijenlerinin varl, ,n,n ara t,r,lması, amaçlanm, t,r. Bu çal, ma ile ara t,rma kapsam,nda olan g,da i letmelerindeki personel hijyeni uygulamaları,n, virolojik aç,dan yeterlili i gözden geçirilmi ve i letmelere konu ile ilgili önerilerde bulunulmu tur.

2. GENEL B LG LER

Virüsler ilk defa bakterilerin geçemedi i filtrelerden geçen etkenler olarak tan,mlanm, lard,r. Yirminci yüzy,l,n ikinci yar,s,nda hücre kültürü tekniklerinin geli tirilmi olmas, birçok virüsün izolasyonuna olanak tan,m, ve elektron mikroskopun kullan,m,yla birlikte viral morfolojinin incelenmesi sa lanm, t,r (Ustaçelebi, 2004).

2.1. Virüslerin Özellikleri

Virüsler bir hücrenin kromozomlar,ndan ba ,ms,z, fakat hücreye ba ,ml, olarak replike olan genetik elementlerdir. Bununla birlikte plazmitler ve di er genetik elementlerden farklı olarak virüsler hücre d , bir forma sahiptirler. Bu ekilde virüsler uzun zaman konakç, d ,nda kalabilir ve bir konakç,dan di erine geçebilmektedirler (Madigan and Martinko, 2010). Virüslerin enerji üretebilecek hücrenel bir organlar, bulunmamaktad,r ve tek ba lar,na üreme kabiliyetine sahip de illerdir (Ustaçelebi, 2004). Virüslerin ço almak için replike olabilecekleri bir hücreye girmelerine enfeksiyon, enfekte olan hücreye de konakç, denilmektedir (Madigan ve Martinko, 2010). Virüsler hücreyi enfekte ettiklerinde hem kendi hem de konak hücrenin mekanizmalar,n, kullanarak ço almaktad,rlar. Bundan dolayı, virüsler hücre d ,nda inaktif hücre içinde aktif olarak bulunmaktad,rlar (Ustaçelebi, 2004).

Hücre içi ve hücre d , formda bulunabilen virüslerin hücre d , formlar,na virion ad, verilmektedir. Virion terimi, genomu (DNA veya RNA) bir hücrede ço alt,p bu nükleik asidi ba ka bir hücreye aktaran virüs yap,s,n, tan,mlamak için kullan,lmaktad,r. Virion ad, verilen virüs partikülü hücre d ,nda herhangi bir metabolik aktivite göstermemektedir (Ustaçelebi, 2004; Madigan ve Martinko, 2010).

2.2. Virüslerin Yap,s,

Virüsler farklı ekillerde olabilirler. Virüslerde ba l,ca iki bile en olan; nükleik asit (RNA veya DNA) ve kapsit (protein) bulunmaktad,r. Kapsidi olu turan kapsomerlerin nükleik asit etraf,nda dizili lerine göre kapsidin ald , ekle yap, prensibi ya da simetri durumu ad, verilmektedir. Virüslerde kübik yap,, helikal yap,, kompleks yap, ve kombine yap, olmak üzere dört ayrı simetri durumu bulunmaktad,r (Öztürk, 2002; Ustaçelebi, 2004).

Virüs yapısındaki nükleik asit ve kapsidin ikisine birden nükleokapsid adı verilmektedir. Bunların dışında bazı virüslerde zar (peplos), lipid, karbonhidratlar ve enzimler de bulunmaktadır. Bazı RNA virüslerinde nükleik asit birden fazla molekülden meydana gelmesine karşın, DNA virüslerinin bir kısmında nükleik asit bir molekülden oluşur. Kapsid nükleik asidi çevreleyen protein tabakasıdır. Kapsid virüsün konakçı hücreye tutunmasını, hücre içine girmesini, nükleik asidin korunmasını, virüs partikülünün simetrik yapışmasını, antijenik karakter kazanmasını ve antikor oluşmasını sağlamaktadır (Kalaycıoğlu vd., 2000; Öztürk, 2002).

Yapılarına göre virüsler 3 gruba ayrılmaktadır:

1. Grup: Bu grupta simetrik olarak 20 düzgün yüzeyli geometrik gövdeli bir forma sahip kapsomerli virüsler bulunmaktadır.
2. Grup: İkinci grupta morfoloji olarak kapsomere sahip olmayan ve nükleokapsitleri bir nükleik asit ve proteinlerden oluşan, helikal simetri gösteren virüsler vardır.
3. Grup: Üçüncü grup nükleokapsidin yanı sıra bir de kuyruk kısmına sahip olan bakteriyofajlardan oluşmaktadır. Bakteriyofajların başlıkları, geometrik yapıya sahipken, kuyruk kısımları, spiralimsi ya da halka formunda yerleşmiş protein yapılarındandır (Kalaycıoğlu vd., 2000).

2.3. Virüslerin Sınıflandırılması,

Virüslerin sınıflandırılmasında aşağıdaki özellikler dikkate alınmaktadır.

- Nükleik asit tipi (RNA veya DNA)
- Nükleik asidin yapısı (tek sarmallı, çift sarmallı)
- Nükleik asidin diğer karakterleri (pozitif veya negatif iplikçikli)
- Virüs partikülünün form ve yapısı
- Virüs partikülünün büyüklüğü
- Yaeriticilerine karşı duyarlılığı (eter ve kloroform)
- Yaeriticileri dışında diğer fiziksel ve kimyasal ajanlara karşı duyarlılığı
- Doku kültürüne afinitesi
- Antijenik özellikleri

Konakçı özellikleri ve tropismus esasına göre virüslerin sınıflandırılması, Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Virüslerin sınıflandırılması, (Öztürk, 2002)

Sınıflandırma Tipi	Virüs Sınıfları
Konakçı, özelliklerine göre virüsler	<ul style="list-style-type: none">• İnsan ve hayvan virüsleri• Bitki virüsleri• İnsekt virüsleri• Soğukkanlı hayvanların virüsleri• Bakteri virüsleri (Bakteriyofajlar)
Tropizmus (doku ve organ afinitesi) esasına göre virüsler	<ul style="list-style-type: none">• Dermatrop (deriye ilgili)• Nöyrotrop (sinire ilgili)• Adenotrop (bezlere ilgili)• Fibrotrop (bağ dokuya ilgili)• Hepatotrop (karaciğere ilgili)• Pnömotrop (akciğerlerle ilgili)• Hematrop (kana ilgili)• Lenfotrop (lenf dokusuna ilgili)• Visserotrop (iç organlara ilgili)

2.4. Gastroenterit Etkeni Olarak Virüsler

taahş, zıkk, bulantı, kusma ve ishal gibi gastrointestinal sistem bulgularıyla seyreden ve gastrointestinal mukozada enflamasyonun geliştiği hastalıklar grubu gastroenteritler olarak tanımlanmaktadır (Özdemir vd., 2013). Gastroenteritler bütün yaş gruplarında hastalıkların ve ölümlerin en yaygın nedenleri arasında yer almaktadır. Endüstriyel toplumalarda bütün yaş gruplarında görülen en yaygın hastalık olan viral gastroenteritlerin (Clark ve McKendrick, 2004) üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en yaygın hastalıklar olduğu ifade edilmektedir (Yarkın, 2004). Yine gastroenteritlerden dolayı dünya genelinde yılda 1.8 milyonun üzerinde bebek ölümleri (Patel vd. 2009) ve ishal kaynaklı hastalıklardan dünya genelinde toplam 4-6 milyon insanın öldüğü ifade edilmektedir (Clark ve McKendrick, 2004).

Gastroenteritlerde enfeksiyon ve enfeksiyon dışı etkenler görülebilmektedir (Özdemir vd., 2013). Bakteriler, parazitler ve virüsler gibi mikrobiyal ajanlar gastrointestinal enfeksiyon etkeni olabilmektedir (Patel vd., 2009).

Kapikian ve arkadaşları (1972) tarafından Amerika Birleşik Devletlerinde Ohio eyaletine bağlı Norwalk şehrindeki bir ilköğretim okulundaki gastroenterit salgınında öğrencilerden alınan enfeksiyöz bir gaita süzüntüsünde immün elektron mikroskobu kullanılarak 27 nm boyutunda virüs benzeri parçacıklar keşfedilmiştir (Kapikian, 2000).

Norwalk virüsü olarak isimlendirilen ilgili virüsün tanımlanmasına kadar etiolojisi açıklanamayan gastroenterit vakalarında virüslerden etken olarak üphelenilmemi tir (Wilhelmi vd., 2003; Yarkın, 2004). Daha sonra Bishop ve arkadaşları, (1973) Melbourne'de (Avustralya) akut gastroenteritli 9 bebeğin 6'sından biyopsi ile alınan duodenal mukoza enterositleri içerisinde viral partiküller (rotavirüs) belirlemişlerdir (Bishop vd., 1973). Yine akut diyareli çocukların gaitalarında 1975 yılında astrovirüsler ve adenovirüsler tanımlanmıştır (Walker-Smith, 1978; Wilhelmi vd., 2003). Yetmişli yıllardan itibaren coronavirüsler, pikobirnavirüsler, pestivirüsler ve torovirüsler gibi virüslerin insanlarda görülen akut gastroenteritle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Wilhelmi vd., 2003).

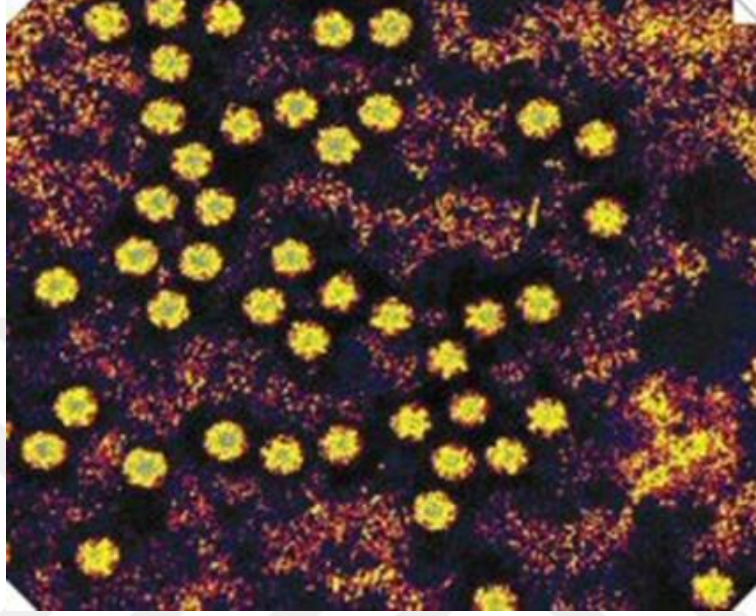
Gastroenteritlerin en önemli semptomlarından biri olan ishal, Dünya Sağlık Örgütü tarafından; öbür günde 3 veya daha fazla gevrek veya sıvı, katı veya birey için normalden daha sık bir dışkılama olarak tanımlanmaktadır (WHO, 2016). Şişli hastalıkların en önemli etkenlerinden biri olan virüsler (Clark ve McKendrick, 2004) kötü hijyen koşullarının bir sonucu olarak kontamine yiyecek veya içme suyu, ya da kişiden kişiye bulaşma yoluyla yayılmaktadır (WHO, 2016). Akut ishal, ölüme sebep olan enfeksiyöz hastalıklar içinde üçüncü sırada yer alıp giderek artan hijyen koşullarına rağmen önemini korumaktadır. Ülkemizde 0-14 yaş arasındaki çocuk ölümlerinin %8.4'ünden ishalleri hastalıkların sorumlu olduğu bildirilmektedir (Nan vd. 2014). Viral kaynaklı gastroenteritlerin en önemli etkenleri olarak astrovirüs, norovirüs ve rotavirüsler gösterilmektedir.

2.4.1. Astrovirüs

Astron kelimesi Latince'de yıldız anlamına gelmektedir (Clark ve McKendrick, 2004). Astrovirüs ismi ilk defa 1975 yılında Madeley ve Cosgrover tarafından gastroenteritli çocukların gaitalarının incelenmesi sırasında elektron mikroskopunda görülen yıldız benzeri küçük (yaklaşık 28nm çapında) yuvarlak bir virüs için kullanılmıştır (Madeley ve Cosgrover, 1975; Kurtz ve Lee, 1987).

Astrovirüsler, *Astroviridae* ailesi üyesi, 28-35 nm çapında, zarfsız, 5-6 köşeli tipik yıldız ekinde (ekil 2.1), pozitif polariteli, tek iplikçikli, kübik simetrik RNA virüsleridir (Clark ve McKendrick, 2004). RNA'sının uzunluğu 6.8-7.2 kb'dir (Jiang vd., 1993). Astrovirüsler, inek, koyun, domuz, kedi, köpek ve hindi gibi birçok hayvandan izole

edilmilerdir. Astrovirüsler, 60°C'de 5 dakikalık süreli inaktivasyona dayanıklıdır, 10 dakika süreli inaktivasyona dayanıklıdır. Asit (pH 3) ve alkolle inaktivasyona karşı dayanıklıdır (Kurtz and Lee, 1987). Sekiz serotipi olan insan astrovirüslerinden tip 1 dünya genelinde en yaygın bulunanıdır (Guix vd., 2005).



ekil 2.1. Astrovirüsün elektron mikroskopik görüntüsü (Munoz, 2016).

Astrovirüsler, dünya çapında çocukluk gastroenteritlerinin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarında diyare şikayeti ile hastaneye gelen çocukların %2-16'sında astrovirüs varlığı tespit edilmiş ve bildirilmektedir (Mendes-Toss vd., 2004).

Astrovirüsler, insandan insana fekal ve oral yolla bulaşmaktadır. Bunun dışında, duş giysileri, havlu, yemek kapları, gıda ve sular dışındaki diğer az rastlanan bulaşma yollarından da bulaşmaktadır (Cukor ve Blacklow, 1984; Herrmann vd., 1991). Astrovirüsler, bebekler ve küçük çocuklarda, yaşıllar ve bakım kurumlarında kalanlarda, bulaşıcı ve yetersizliğin olduğu ortamlarda, astrovirüslerle kontamine gıda ya da sularla temas eden sağlıklı kişilerde gastroenteritlere neden olabilmektedirler (Öztürk, 2008a).

Astrovirüsler ince bağırsakta villuslar üzerindeki olgun enterositleri enfekte etmekte ve bunların lizis üramasına neden olmaktadır. Enfeksiyon sonrasında serotipe özgün koruyucu antikor ve cevap gelişmektedir. Daha önce gelişmiş özgün antikorlar semptomatik reenfeksiyonlardan korumaktadır (Matsui ve Greenberg, 1996).

Astrovirüsün neden olduğu gastroenterit 1-4 günlük kuluçka süresi sonrası, sulu diyare ile kendini göstermektedir (Yarkın, 2004). Enfeksiyonda ilk 24 saatte ortalama 4 gaitalama (1 ile 10 arasında değişmektedir), kusma (%20-62) ve ateş (%7-25) görülmektedir. Astrovirüslerin neden olduğu diyare rotavirüs diyaresi ile karşılaştırıldığında toplam gaitalama sayısı ve diyare süresi bakımından daha hafif seyretmektedir. Astrovirüs enfeksiyonları başlıca ölüm nadir görülürken ortalama 4 gün süren hastalık durumu bazen 21 güne kadar uzayabilmektedir (Jeong vd. 2012).

Astrovirüs tanısında elektron mikroskopi (EM), immün EM, hücre kültürü, enzim bazlı immünolojik yöntemler (EIA ve ELISA gibi), lateks aglütinasyon ve PCR teknikleri (astrovirüs spesifik ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu) kullanılmaktadır (Guix vd., 2005; Özdemir vd., 2010; Jeong vd., 2012). Bu yöntemlerden bir kısmı uygulanması zor ve zaman alıcı yöntemler olup bazıları rutin analizler için uygun görülmemektedir. Günümüzde rutin tanı için ticari ELISA ve LA kitlerinin kullanılması, direkt antijen testleri tercih edilmektedir (Özdemir vd., 2010).

Astrovirüsün neden olduğu hastalık hafif seyirli olup, tedavi gerektirmeden kendiliğinden iyileşmektedir. Semptomatik tedavi ishalin devam etmesi durumlarında yapılabilmektedir. Astrovirüs enfeksiyonundan korunmada etkin bir aşı yoktur (Öztürk, 2008a). Salgınların kontrolü ve önlenmesinde el yıkama son derece önemlidir (Yarkın, 2004). Yine su ve gıda konusunda gereken hijyenik önlemler alınmalı, gıda üretiminde çalınanlar, el yıkamaları, özen göstermeleri sağlanmalıdır (Öztürk, 2008a).

Ülkemizde yapılan bazı çalınmalarda ishal yakınması ile hastaneye başvuran çocukların gaita örneklerinde astrovirüslere rastlanmıştır. Örneğin Özdemir vd. (2010), Mersin ilinde Ocak-Aralık 2008 tarihleri arasında yaptıkları çalınmada, ishal yakınması ile hastaneye başvuran 0-6 yaş arasında 182 kişi kız, 181 erkek olmak üzere toplam 363 çocuğun gaita örneklerini incelemiştir. Örneklerde astrovirüs antijen varlığı, monoklonal antikoların kullanılması, sandviç ELISA yöntemine dayalı ticari kitler (R-Biopharm RIDASCREEN, Almanya) ile araştırılmıştır. Çalınılan örneklerde Astrovirüs saptanma oranları %1.7 (6/363) olarak belirlenmiştir. Örneklerde astrovirüs etkeninin görülme sıklığı, cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p> 0.05). Astrovirüs pozitif olguların ikisi 0-12 ay, üçü 13-24 ay ve biri 25-36 ay grubunda bulunmuş olup üç yaşından büyük 135 çocukta astrovirüs pozitifliği belirlenmemiştir. Astrovirüs pozitif olgu sayısı, nisan-sonbahar ve kış aylarında yoğunlaştığı; mayıs-ostu arasında pozitif olguya rastlanmadığı görülmüştür. Çalınma sonucunda araştırılan ayların 1-3 yaş grubu

çocuklarda görülen gastroenteritlerin astrovirüs yönünden ara t,r,lmas,n,n, bu tip enfeksiyonlara yakla ,m aç,s,ndan yol gösterici olaca ,kan,s,na varm, lard,r.

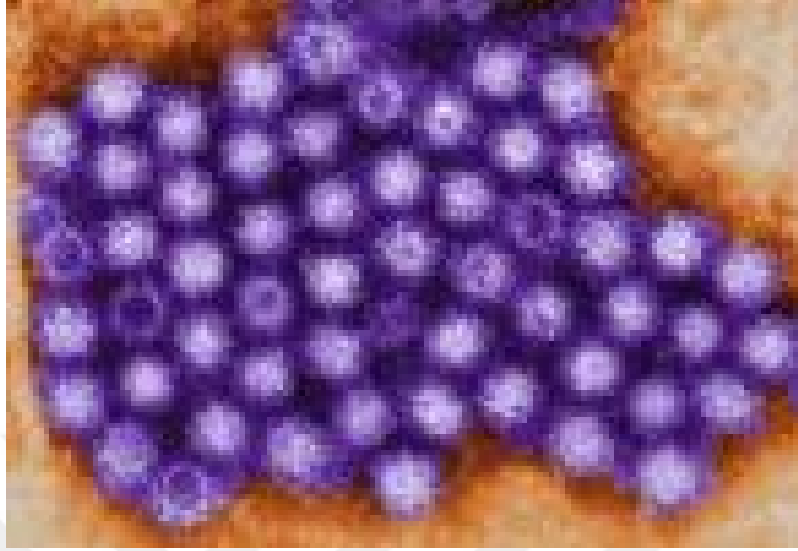
Akhter vd. (2014), ishali çocuklar,n gaita örneklerinde astrovirüs varl ,n, RT-PCR yöntemi ile ara t,rm, lard,r. Çal, maya, Haziran-Aral,k 2012 tarihleri aras,nda ishal ikayeti ile Ankara Üniversitesi T,p Fakültesi Hastanesine ba vuran, rutin bakteriyolojik ve parazitolojik incelemelerinde patojen etken saptanmayan, 5 ya alt,ndaki 50 çocuk olguya ait gaita örne i dahil edilmi tir. Örneklerden RNA ekstraksiyonu yap,ld,ktan sonra, ters transkripsiyon ile elde edilen DNAlarla öncelikle internal kontrol ekspresyon analizleri gerçekleştirilmi ve 31 örnekte (%62) internal kontrol pozitif olarak bulunmu tur. Bu örneklere daha sonra Astrovirüs için özgül primer çiftleri kullan,larak PCR yöntemi uygulam, lard,r. Çal, mada, internal kontrol pozitif 31 örne in birinde (%3.2) astrovirüs pozitiflik tespit edilmi tir.

Mitui vd. (2014) taraf,ndan yap,lan bir çal, mada Türkiye ve Banglade øte diyareli çocuklardan toplanan toplam 288 gaita örne inde enterik virüslerin da ,l,m,na bak,lm, ve virüsler moleküler yöntemlerle tan,mılanm, t,r. Çal, mada ülkemizden toplanan toplam 150 gaita örne inin 4øünde (%2.7) ve Banglade øten toplanan 138 gaita örne inin 13øünde (%9.4) astrovirüs belirlenmi tir.

2.4.2. Norovirüs

Caliciviridae familyas,nda 4 cins bulunmaktadır: Bunlardan her ikisi de insanlar için patojen olan Norovirüs ve Sapovirüs ile hayvanlar, enfekte eden ancak insanlar için patojenitesi bilinmeyen Lagovirüs ve Vesivirüslerdir. Daha önceleri (2002 y,l,ndan önce) Norwalk benzeri virüsler olarak bilinen (Greening, 2006) norovirüsler, *Caliciviridae* familyas,nda, virionunun çap, yakla ,k 28-35 nm, tek zincirli, pozitif polariteli, 7.3-7.6 kbøik RNA genomu içeren (Koopmans vd. 2002), ikosahedral yap,da bir kapside sahip (ekil 2.2), çevresel etkilere ve 60°Cøye kadar s,cakl, a dayan,kl,, kübik simetrik ve zarfs,z virüslerdir (Uyar, 2008). RNA polimeraz ve kapsid bölgesinin genetik farklıl, ,na göre be farklı genetik gruba ayr,lan norovirüslerden GI (8 genotip), GII (19 genotip) (Altay vd. 2013; Loutreul vd. 2014) ve GIV (Altay vd. 2013; Özdemir vd. 2013) genetik gruplar, insanlarda hastal,k etkenleri olup GII.4 genotipinin dünya genelindeki salg,nlar,n en yayg,n sebebi oldu u bildirilmektedir (Siebenga vd., 2009; Altay vd., 2013). GI fare,

GII domuz, GIII s, r ve GIV köpeklerden izole edilen norovirüs genetik gruplar,d,r (Green vd., 2001; Ramirez vd., 2008).



ekil 2.2. Norovirüsün geçirimli elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü (CDC, 2016).

Norovirus insan d, nda deniz memelileri, domuz, s, r, kedi, tav an gibi hayvanlarda da saptanm, t,r. Norovirüsler, dondurma i lemi, asitle muamele (pH 2-7øye 3 saat) ve ,s,l i leme (60°Cøde 30 dakika) dayan,kl,d,r. Dezenfektanlara enterovirüslerden daha dirençli olan norvirüsler, klor (>10 mg/L) ile tamamen, %70 alkol ile k,smen inaktive olmaktadır (Clark vd., 1998; Jones, 2004; Thornton vd., 2004).

Norovirüsler tüm dünyada su ve g,da kaynakl, viral gastroenteritlerin en yayg,n viral etkenleri olarak de erlendirilmektedir (Siebenga vd., 2009). Tüm dünyadaki gastroenterit salg,nlar,n,n %50øsinin nedeni olarak norovirüsler gösterilmektedir (Özdemir vd., 2013). Amerika Birle ik Devletleriønde her y,l norovirüs kaynakl, yakla ,k 23 milyon gastroenterit vakas, oldu u bildirilmektedir (Thornton vd., 2004). Yine Avrupaøda görülen viral gastroenterit salg,nlar,n,n ço unlu u norovirüslerle ili kilendirilmi olup 1995-2000 y,llar, aras,ndaki bakteriyel olmayan gastroenterit salg,nlar,n,n %85øten fazlas,n,n nedeninin norovirüsler oldu u bildirilmi tir (Greening, 2006).

Norovirüs akut gastroenteritisleri, geli mi ve geli mekte olan ülkelerde ve her ya insanda görülmekte, daha az olarak sporadik, ço unlukla epidemik ve baz, durumlarda ise pandemik olarak yay,lmaktadır (Kireççi ve Özer, 2011). Norovirüs salg,nlar, genellikle kusmuk aerosolü içeren havan, n solunmas,, fekal oral yol, ki iden ki iye temas, kontamine yüzeyler, cans,z nesnelere (mobilya, masa, sandalye vs.), kontamine su (içme suyu, havuz

sular,, göl sular,, buz küpleri), kontamine gıda (midye, istiridye gibi kabuklu deniz hayvanlar,, salatalar, dondurma, soğuk yiyecekler, sandviç, taze sebze ve meyveler) ve gıda ile ulaşan kişilerin elleri ile meydana gelmektedir (Marks vd., 2000; Uyar vd., 2008; Patel vd., 2009). Tüm dünyada 1996-2000 yılları arasında gelişen 348 norovirüs salgınında bulaşmanın %12'sinin insandan insana, %3'ünün su ve %39'unun ise gıda kaynaklı olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte gaita gaita ile kontamine su kaynaklarının büyük salgınlarda ortaya çıkmasında en önemli etken olduğu tespit edilmiştir (Thornton vd. 2004).

Bulaşma, çocuk yuvalarında, göçmen kamplarında, tatil yapılan kamp ve diğer kurumlarda, hastanelerde, okullarda, restoranlarda, gemi yolcularında, huzurevlerinde, askeri birliklerde ve aile içi bireylerde görülmekte ve virüs gruplarında salgınlara neden olabilmektedir. Salgınlarda birincil olgular, sıklıkla fekal içerikle kontamine yiyecek ve çevresel maddelerden oluşurken, ikincil olgular insandan insana geçiş ekinde oluşmaktadır. Kusmanın sık olması ve geniş alanlara yayılan kontaminasyona bağlı olarak salgınlarda kontrol altına almak güç olmaktadır. Hekime başvuru yapılan ishallerinin yaklaşık %20 kadarından norovirüslerin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Uyar vd. 2008; Anonim, 2015b)

Norovirüs enfeksiyonları, gelişimi ve gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak görülmektedir. Hastalık sonrasında, virüsün 28 gün süresince gaitada bulunabilmesi (10⁴ viral kopya/g gaita) ise salgınlarda önem taşımaktadır (Öztürk, 2008b; Kireççi ve Özer, 2011). Norovirüsler için enfektif doz 10-100 virüs partikülü olarak bildirilmektedir (Thornton vd. 2004; Kim vd. 2014). Virüs mideden geçmekte, ince bağırsaklara ulaşarak burada (jejenum) mukozada replike olmaktadır. Mide ve kolonda bir defa görülmemektedir (Öztürk, 2008b; Kireççi ve Özer, 2011). Norovirüs, bağırsak epitel hücrelerinde villus uçlarında enterositler üzerindeki karbonhidrat reseptörlerine bağlanmakta, ilgili karbonhidrat reseptörleri genetik olarak tayin edilen ve ahsa özgü yapıdadır ve norovirüse karşı kişilerin duyarlılığı, farklılık göstermektedir. Norovirüs enfeksiyonları sonrasında en az 4-6 ay süreyle tekrar eden enfeksiyona karşı direnç gelişmektedir. Bu süreden sonra bağışıklık cevabı zamanla zayıflamakta, 3-4 yıl sonra aynı virüsle enfeksiyonlar görülebilmektedir. Tekrarlayan bulaşmalar sonrasında bireylerde direnç artmaktadır (Öztürk, 2008b).

Virüsün ortalama inkübasyon süresi 24-48 saattir. Klinik bulgular çoğunlukla 12-72 saat içerisinde kusma, ishal veya her ikisinin görülmesiyle ortaya çıkmaktadır. Virüs 22 günden daha uzun süre hasta gaitası ile saçılmaya devam etmektedir (Thornton vd., 2004).

Hastalar, n ço unda belirtiler aniden ba lamakta, ilk olarak bulant,yla birlikte kar, n a r,s, görülmektedir. Virüs genel olarak mide gribi, kusma,, akut bakteriyel olmayan gastroenteritis ve viral gastroenteritis gibi isimlerle bilinen hastal,klara yol açmaktadır. Kusma çocuklarda, eri kinlerden daha sık rastlanan bir belirtidir. Bir ya ,ndan büyük bebek ve çocuklarda kusma daha yaygın, 1 ya alt,ndaki bebeklerde ise ishal sık,kl,la görülmektedir. Kar, n kramplar,, kas ağ,r,lar,, baş ağ,r,s,, halsizlik ve ate ş,kl,la olabilmektedir (Kireççi ve Özer, 2011; Anonim, 2015b). Virüsün tan, yöntemlerinde astrovirüslerde olduğu gibi, immün elektron mikroskopik inceleme, antijen arama, antikör arama ve moleküler teknikler kullanılmaktadır (Öztürk, 2008b).

Gıda su, kişisel temaslar ve çevresel yüzeyler aracılığıyla kolay bulaşma olduğundan, norovirüs ile ilgili salgınlar, kontrol etmek zor olmaktadır. Salgınlar genellikle su ve gıda kaynaklı olduğundan bu kaynakların kontamine olmasını engelleyici önlemler korumada önemlidir. Hastane gibi ortamlarda sanitasyon ve hijyen standartlarının yükseltilmesi gerekir. Salgın ve hastalık durumlarında ise el hijyenine önem verilmeli, kontamine yüzeyler uygun dezenfektanlar ile temizlenmelidir. Gıda sanayinde çalışan işhali kişiler semptomlar, geçtikten en az iki üç gün üretim bölümünde çalışılmamalıdır (Kireççi ve Özer, 2011).

Ülkemizde üretilip tüketilen gıdalarda içlerinde norovirüslerin de olduğu viral kaynaklı bulaşmaların tespit edildiği oldukça sınırlı sayıda çalışmada bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde (Yılmaz vd., 2011), Türkiye'de üretilip tüketilen bazı gıdalardaki norovirüs varlığını ortaya konması amacıyla, insanlarda patojen olduğu bildirilen norovirüs GI ve GII genetik türlerinin domates, maydanoz, yeşil soğan, marul, karabiber, salata ve bulgur toprakları gibi hazırlanmış gıda maddelerinde varlığını ve bulunma şekilleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda analiz edilen 525 gıda örneğinden bir adet yeşil soğan ve bir adet domateste norovirüs GII tespit edilmiştir.

Ülkemizde norovirüslerin gastroenterit etkeni olarak rollerinin belirlenmesiyle ilgili çalışmalar daha çok ishal şikayeti olan bireylerin gaitalarında norovirüslerin aranması şeklinde gerçekleştirilmektedir. Konu ile ilgili olarak Türkiye'de 2006-2007 yıllarında norovirüslerin tanınmasıyla ilgili yapılan bir çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi pediatri servisinde yatan %17 oranında vakada norovirüs etkeni gözlemlenmiştir. Bu çalışmada norovirüslerin 14 örnekte GIIb/Hilversum bir örnekte de GII.4 genogrupuna ait olduğu belirlenmiştir (Altınözü vd., 2009).

Diğer bir çalışmada (Albayrak vd., 2011), Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Viroloji Referans ve Araştırma

Laboratuvarına 2009 y,il içinde 11 ayr, ilden gelen 147 gaita örneğinde ticari multipleks gerçek zamanlı PCR kiti ile norovirus Genotip I, norovirus Genotip II, rotavirus, adenovirus ve astrovirus taraması yapılmış, t,r. Çal, mada altmış be (%42,2) örnekte en az bir viral etken, 10 (%6,8) örnekte ise birden fazla viral etken aç,s,ndan pozitiflik bulunmuştur. Çal, man,ın yapıld, , bir y,il,k süreçte, ara t,r,lan virüsler içinde en s,k norovirus enfeksiyonu (özellikle Genotip II) rastlan,rken, bunu s,ras,yıla rotavirus ve astrovirus enfeksiyonları izlemiştir.

nan vd. (2014), Ocak 2011-Aral,k 2012 tarihleri arasında akut viral gastroenterit tan,s, ile (173 hastada norovirus) Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvar,ına gönderilen gaita örneklerini immünokromatografik yöntem ile norovirus varl, , aç,s,ndan ara t,r,m, lar, akut viral gastroenterit etkeni olarak %8,1 (n=14/173) norovirus pozitifliği saptan, lar,d,r. Cinsiyete göre norovirus s,kl, ,n, kad,ın ve erkek hastalarda s,ras, %42,2, %57,8 olarak saptan, lar,d,r. Cinsiyete ve mevsimsel farklıl, a göre viral etken s,kl, , arasında anlaml, farklıl,k belirlenmemiştir. Çal, mada be ya alt,, 6-17 ya ve yeti kin ya grubu olarak üç farklı ya aral, ,nda de erlendirildi inde norovirus etken s,kl, , aç,s,ndan istatistiksel olarak anlaml, bir farklıl,k tespit edilmemiştir.

Özdemir vd. (2013), Konya bölgesinde Hastane Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvar,ına çe itli klinik, poliklinik ve yo un bakım ünitelerinden gönderilen ve kar,n a r,s,, ishal, kusma ikâyeti olan hastalardan alınan 300 gaita örneğini incelemiştir. Bu örneklerde mikroskopik inceleme yapılarak parazit yönünden negatif bulunanlarda Norovirus varl, , ELISA yöntemi ile ara t,r,lm, ve örneklerin 35,7'sinde (%11,7) norovirus varl, , belirlenmiştir. Ara t,r,mac,lar, söz konusu çal, mada norovirus enfeksiyonları,n,n A ustos ve Eylül aylar,nda daha fazla görüldü ünü ifade etmiştir.

Altay vd. (2013) yapt,klar, çal, mada, Eylül 2004 ile Haziran 2011 tarihleri arasında Sağlık Bakanl, , Ankara E itim Ara t,r,ma Hastanesi ve Gazi Üniversitesi T,p Fakültesi Hastanesi'ne başvuran akut gastroenteritli 0-5 ya arasında 1000 çocuktan (413 kız, 587 erkek) alınan gaita örnekleri norovirus genogrup GI ve GII antijen pozitifliği i aç,s,nda ELISA yöntemi ile (RIDASCREEN® Norovirus (C1401) 3rd Generation, R-Biopharm, Almanya) incelenmiştir. Norovirus GI ve GII antijeni; 62,6'si (%15) kız, 79,4'u (%13,5) erkek olmak üzere toplam 141 (%14,1) hasta örneğinde pozitif olarak saptanmış, , cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlaml, bir fark belirlenmemiştir (p> 0,05). En yüksek NoV pozitifliği inin 12-23 ayl,k çocuklarda (%17,1) saptandı, , izlenmiştir; ancak ELISA pozitifliği ile ya arasında istatistiksel olarak anlaml, bir fark bulunmamış, t,r (p>

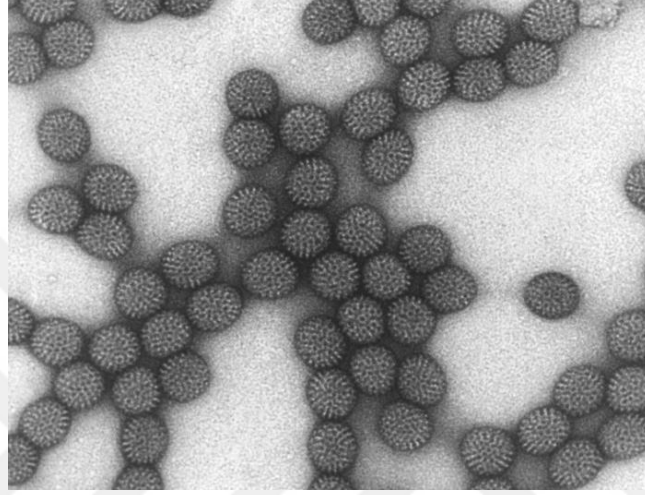
0.05). Norovirus enfeksiyon sıklığı, ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde sırasıyla %13,8, %17,7, %14,7 ve %11,2 olarak saptanmış ve enfeksiyonun mevsimler arasındaki dağılımı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p> 0,05). Klinik bulgular incelendiğinde, NoV pozitif 141 hastanın tümünde (%100) ishal, 72'sinde (%51,1) ise kusma olduğu izlenmiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar Ankara'da sekiz yıllık bir süreci içeren bu retrospektif çalışmada, akut gastroenteritli 0-5 yaş grubu çocuklarda %14,1 olarak saptanan norovirüs GI/GII prevalans değerinin, bölge verilerini yansıtabileceği ve ülkemiz epidemiyolojik verilerine katkıda bulunacağı ifade edilmiştir. Ayrıca, çalışmada ülkemizde rotavirüs aşınmaya başlanması bir sonucu olarak 0-5 yaş ishalleri arasında norovirüslere daha sık rastlanacağı öngörülmüştür. Bu nedenle, NoV antijen saptama testlerinin, sporadik ve/veya epidemik enfeksiyonların tanınması için rutin uygulamaya girmesi gerektiği kanıtlanmıştır.

Uyar ve ark. (2008), 2008 yılının Mayıs ayından itibaren önce Aksaray olmak üzere, Ereğli, Konya ve Adana şehirlerinde dişshal ve bulantı-kusma ile karakterize olgularda, bölgesel laboratuvarlarda yapılan incelemelerde bilinen bakteriyel (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., enterotoksijenik *Escherichia coli*), viral (rotavirüs, adenovirüs) ve paraziter etkenlerin saptanmadığı, toplam 50 gaita örneğini norovirüs varlığı açısından analiz edilmiştir. Araştırmada norovirüs tanınması için antijen-ELISA (Ridascreen, R-Biopharm, Almanya) ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (Roche Diagnostics GmbH, Almanya) yöntemleri kullanılmış ve gaita örneklerinin %26'sinde (13/50) antijen ve %33'ünde (13/40) ise nükleik asit pozitifliği belirlenmiştir. Norovirüs RNA varlığı, saptanan 13 örneğinin 9'unda (%69,2) GI ve 4'ünde (%30,8) ise GII genotipini tespit edilmiştir. Çalışmada gerçek zamanlı PCR ile karşılaştırıldığında, ELISA testinin duyarlılığı %61,5 ve özgüllüğü ise %100 olduğu görülmüştür. Araştırmacılar yaygın, hızlı, yüksek olan ve ciddi ekonomik ve iş gücü kayıplarına yol açan norovirüs salgınları ile ilgili olarak, ülkemizde daha geniş epidemiyolojik çalışmalar ve genom dizilimi araştırmalarına ihtiyaç duyulduğunu ifade edilmiştir.

2.4.3. Rotavirüs

Rota kelimesi Latince'de tekerlek benzeri anlamına gelmektedir. Virüs partiküllerinin elektron mikroskopundaki tekerlek benzeri görüntüsünden dolayı, virüse rotavirüs adı verilmiştir (ekil 2.3) (Clark and McKendrick, 2004). Rotavirus, *Reoviridae*

ailesinden, çift sarmallı, kapsidi ikozahedral, zarfsız, 70 nm büyüklüğünde bir RNA virüsüdür (Clark and McKendrick, 2004; Yarkın, 2004; Öztürk, 2008c). Üç katmanlı, viral kapsidin merkezinde 11 segmentten oluşan virüs genomu bulunmaktadır. Rotavirüs başlıca 7 grup (A-G) içermektedir (Parashar vd. 1998; Clark and McKendrick, 2004). Birçok insan suşu A grubunda iken B ve C grupları, insanlarda çok nadir hastalık olmasına sebebiyet vermektedir (Parashar vd. 1998).

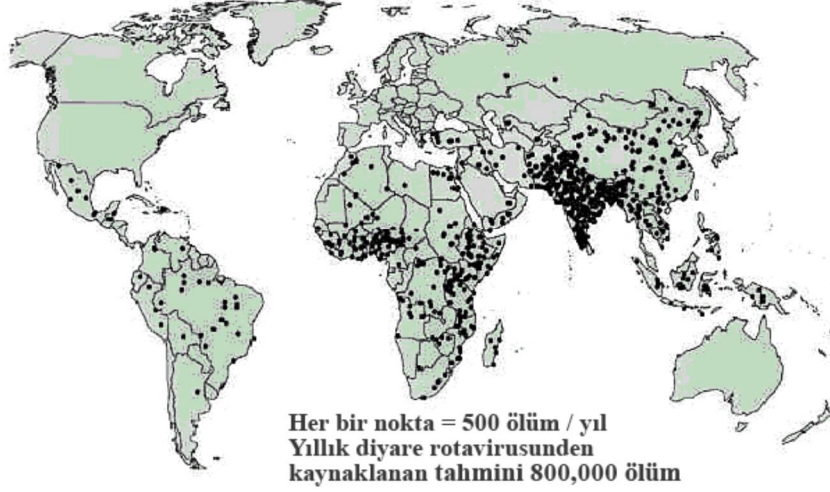


ekil 2.3. Rotavirüs partiküllerinin geçirimsiz elektron mikroskopundaki (TEM) görüntüsü (CDC, 2016).

Oda sıcaklığında ve 56°C'de stabil olan rotavirüsler, deterjanlara, 3,5-10 arasındaki pH değerlerine, tekrarlı dondurma ve çözündürme işlemleri (Öztürk, 2008c) ile kloroform ve etere karşı, (Yarkın, 2004) canlılıklarını koruyabilmektedirler. Yüzeysel dezenfektanlar, ve el yıkama antiseptiklerine karşı nispeten dirençli olan rotavirüsler, çok düşük pH değerleri (pH 2), %5'lik lizol, %3'lük formol (Burgu ve Akça, 2004; Yarkın, 2006), %40'tan daha yoğun alkol, klor ve iyodoform çözeltileri ile inaktive olmaktadır (Öztürk, 2008c).

Rotavirüsler hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde bebek ve küçük çocuklarda ishallerin en sık nedenidir (Richards, 2001). Dünya genelinde görülen ciddi çocukluk çağı diyarelerinin yaklaşık %39'unun nedeni olan rotavirüsler her yıl yaklaşık 800000 ölüme yol açmaktadır (ekil 2.4) (Levy vd. 2009; Bonkoungou vd. 2010). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklar aynı şekilde rotavirüs enfeksiyonlarına maruz kalabilmekte iken rotavirüs kaynaklı ölümlerin çok önemli bir bölümünün (%82) yeterli tedavi olanakları olmadığı, fakir ülkelerde görüldüğü bildirilmektedir (Levy vd. 2009) (ekil 2.4). Rotavirüsler, genellikle toplu halde yaşanan yerlerde salgınlara

neden olmaktadır. Yaşlılar, n ya ad, , huzur evleri, askeri birlik mensuplar,, sağlıklı çalışanlar, ve turistler rotavirüslerin normale göre daha sık etkilendiği topluluklardır (Dormitzer vd. 2005).



ekil 2.4. Çocuklarda gastroenterit etkenlerinin dağılımı, (Entes, 2007).

Yenidoğan diyaresi veya çocuk diyaresi olarak da adlandırılan (Entes ve Kapikian, 2007) enfeksiyonlara yol açan rotavirüsler genellikle fekal-oral yolla bulaşmaktadır. Diğer bulaşma yollarının kontamine yüzeyler ve eller, solunum yoluyla yayılma (Vasickova vd., 2005) ve kişilerin birbirleriyle teması (Parashar vd. 1998) olduğu bildirilmektedir.

Rotavirüs enfeksiyonu için kuluçka periyodu 1-2 gün olarak bildirilmektedir (Greening, 2006). Rotavirüs enfeksiyonları genellikle 6 ay-2 yaşındaki çocuklarda (Clark ve McKendrick, 2004) ve daha çok kış aylarında (Clark ve McKendrick, 2004; Greening, 2006) görülmektedir. Tropik bölgelerde salgınlar yılın daha soğuk ve kuru aylarında görülmektedir (Greening, 2006; Levy vd., 2009) Bütün yaş gruplarında 2-3 gün devam eden ateş ve kusma, takiben kanlı ishal görülmektedir. Tipik olarak günde 10-20 gaitalama olunduğundan enfeksiyon çok ciddi su kaybına (dehidrasyon) yol açmaktadır. Sağlıklı yetiştirilen çocuklarda rotavirüs partiküllerinin vücuda alınması, takip eden 2-6 gün sonucunda diyare ortaya çıkmakta ve 1-4 gün sürmektedir (Clark ve McKendrick, 2004). Rotavirüs enfeksiyonu ile ilgili semptomlar Çizelge 2.2'de özetlenmiştir. Semptomlar başlangıçta belirgin olmayan çocuklarda haftalarca ve aylarca devam edebilmektedir. Yine yetersiz beslenen çocuklar enfeksiyondan daha fazla etkilenmekte ve bu çocuklarda ölüm oranı daha yüksek olmaktadır (Öztürk, 2008c).

Çizelge 2.2. Sa 1,kl, yeti kin gönüllülerde rotavirüs al,nd,ktan sonra görülen semptomlar ve görülme s,kl,klar, (Clark ve McKendrick, 2004)

Semptom	Görülme s,kl, , (%)
Diyare	31
Bulant,	22
tahs,zl,k	21
Ate (>37,2)	18
Ba a r,s,	16
Keyifsizlik-k,r,kl,k	15
Bacaklarda kramp	15
Titreme	11
Kusma	9

Rotavirüs gastroenteriti genellikle kendili inden iyile mektedir. Morbidite ve mortalitenin ana nedeni dehidrasyon oldu undan, rehidrasyon ve elektrolit dengesinin sa lanmas, tedavinin esas,n, olu turmaktad,r (Öztürk, 2008c). Enfeksiyondan korunmak için el y,kanmas, ve di er enterik koruma önlemlerinin al,nmas, önemlidir. Rotavirüs gastroenteritine ba l, morbidite ve mortalitenin azalt,lmas,na yönelik çal, malar, hastal, ,n a , ile önlenmesinin en etkin çözüm oldu una i aret etmektedir (im ek vd. 2007).

Rotavirus enfeksiyonunda özgül tan, teknikleri, di er virüslerde oldu u gibi elektron mikroskopla görüntüleme, antijen aranmas, (lateks aglütinasyon, ELISA), nükleik asit temelli testler (RNA elektroforezi, polimeraz zincir reaksiyonu), kültür ve serolojidir (Öztürk, 2008c). Akut gastroenterit vakalar,nda sorumlu etken olarak rotavirüsün ara t,r,ld, , çok say,da çal, ma bulunmaktad,r. Bu çal, malardan baz,lar,n,n sonuçlar, a a ,da özetlenmi tir.

Atalay vd. (2013), 0-16 ya aras, çocuklara (1102 k,z ve 1534 erkek çocuk) ait 2636 taze gaita örne inde rotavirüs antijeni varl, ,n, ara t,r,m, lard,r. Ara t,r,mac,lar örneklerin 277øsi (%25,1) k,z çocuklar,na ve 386ø, (%25,2) erkek çocuklar,na ait olmak üzere toplam 663øinde (%25,2) rotavirüs antijenini saptam, lard,r. Cinsiyet ile rotavirüs antijeni pozitifli i aras,nda istatistiksel olarak anlaml, fark bulunmad, , (p=0,620) ifade edilmi tir. Çal, mada rotavirüsün antijen pozitifli i mevsimsel olarak de erlendirilmi ve pozitifli in en çok k, mevsiminde (%39,5) ve en az ise yaz mevsiminde (%9,7) oldu u saptanm, t,r. Ara t,r,mac,lar rotavirüsün antijen pozitifli inin en s,k saptand, , ilk üç ay, Ocak (%46,4), Aral,k (%40) ve Kas,m (%32,3) olarak bildirmi lerdir.

nan vd. (2014), akut viral gastroenterit tan,l, toplam 435 hastan,n gaita örneklerini immünokromatografik yöntem ile rotavirüs varl, , aç,s,ndan ara t,r,m, lar ve örneklerin %9,7øinde (n=42/435) rotavirüs pozitifli i saptam, lard,r. Çal, mada cinsiyete, ya

gruplar,na (5 ya alt., 6-17 ya ve yeti kin) ve mevsimsel farklılıklarına göre viral etken sıklıkla, , aras,nda anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

Özdemir vd. (2013), karın ağrısı, ishal ve kusma şikayeti olan hastalardan alınan 300 gaita örneğinde rotavirüs varlığını immunokromatografik yöntem ile araştırmışlardır. Örneklerin %52,3'ünde (%17,3) rotavirüs belirlenmiştir. Araştırmacılar rotavirüsün en yüksek pozitif bulunduğu ayları Kasım veubat olduğunu bildirmişlerdir.

Özdemir vd. (2010), Ocak-Aralık 2008 tarihleri arasında yapılan çalışmada, ishal yakınması ile hastaneye başvuran 0-6 yaş arasındaki 182 kız, 181 erkek olmak üzere toplam 363 çocuğun gaita örneğinde rotavirüs antijen varlığını monoklonal antikorları kullanarak, sandwich ELISA yöntemine dayalı ticari kitler (R-Biopharm RIDASCREEN®, Almanya) ile araştırmışlardır. Çalışılan örneklerin %32,2'sinde (117/363) rotavirüs antijeni saptanmıştır. Çalışmada rotavirüs enfeksiyonları; Aralık (n= 17; %50), Ocak (n=22; %46,8), ubat (n=21; %41,2) ve Mart (n=12; %31,6) aylarında daha sık görüldüğü, olgu sayısı yaz aylarında azaldığı, ve Kasım ayında (n=14; %38,9) tekrar artmaya başladığı belirlenmiştir.

Nazik vd. (2006), akut gastroenterit ön tanılı çocuklardan alınan 3618 gaita örneğinde rotavirüs antijenini immunokromatografik yöntem ile araştırmışlar ve örneklerin %74,5'inde (% 20,6) rotavirüs antijeni saptamışlardır. Rotavirüs pozitifliği Ocak-ubat-Mart aylarında daha yüksek oranda belirlenmiştir. Araştırmacılar sonuçta, özellikle kış aylarındaki çocuk gastroenteritlerinde rotavirüslerin önemli bir etken olduğunu ve rutin olarak araştırılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Kaifolu vd. (2011), 2005-2011 yılları arasında yapılan çalışmada akut gastroenterit ön tanılı, 0-16 yaş arasında 1241 çocuğa ait gaita örneğinde saptanan rotavirüs pozitifliğinin demografik verilerle ilişkisinin retrospektif olarak değerlendirilmesini amaçlamışlardır. Buna göre hasta örneklerinin %24,7'sinde (%19,9) rotavirüs antijeni pozitif bulunmuştur. Araştırmacılar pozitiflik saptanan olguların %46,2'sinin (%46,2) kız çocukları ve %53,8'sinin (%53,8) de erkek çocukları ait olduğunu bildirmişlerdir. Rotavirüs antijen pozitifliğinin en sık ilk beş yaşta (%21,8) ve bu yaş aralığında içerisinde de alt aylık dönem ile iki yaş arasında (%23,2) olduğu görülmüştü ve en fazla kış mevsiminde rastlanılmıştır. Çalışmada rotavirüs antijen pozitifliğinin en sık saptandığı ilk üç aylık dönem ubat (%38,1), Ocak (%35,2) ve Aralık (%34,2) ayları olarak belirlenmiştir.

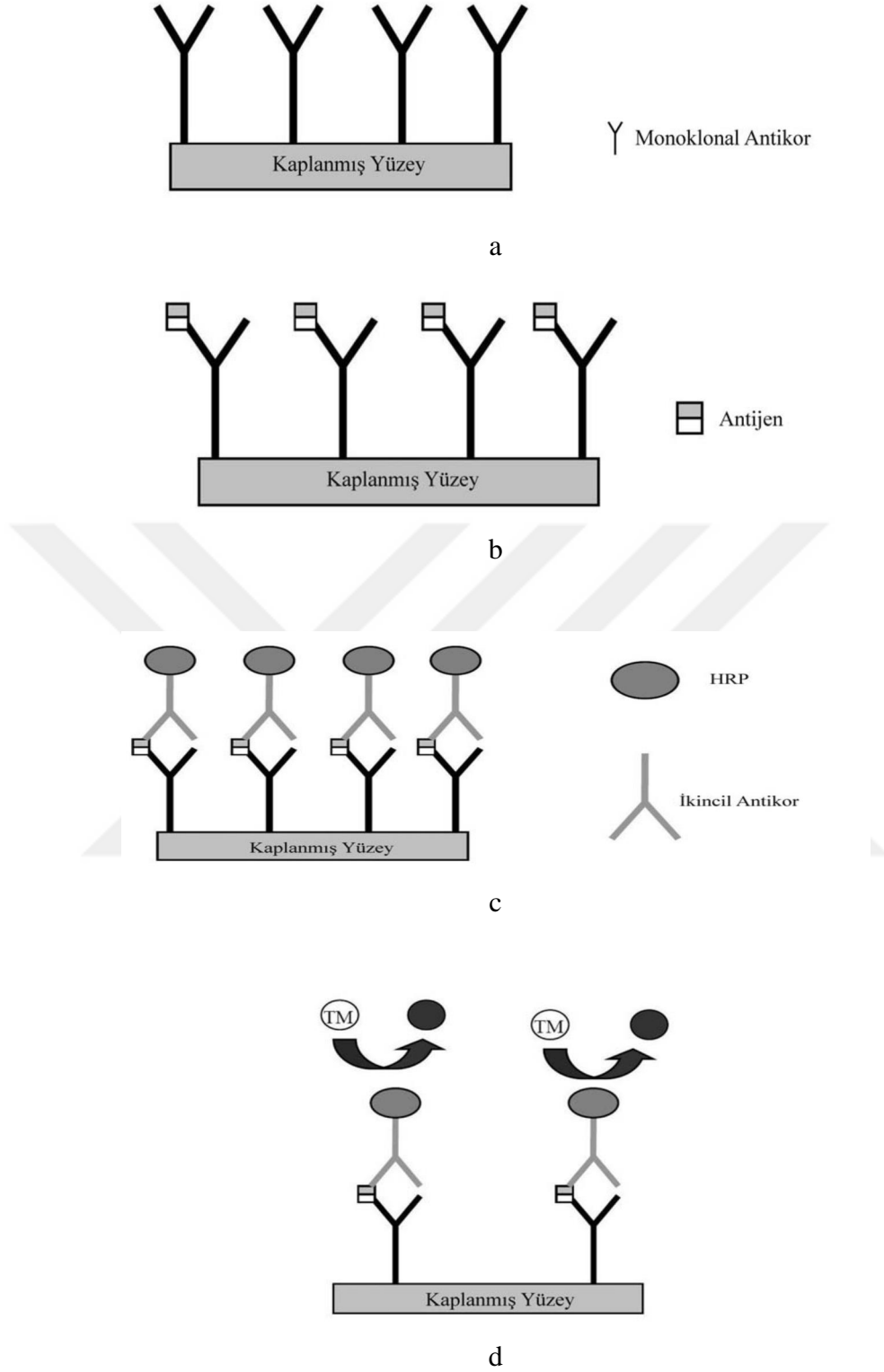
Yukarıda bildirilen çal, malarla benzer olarak rotavirüs enfeksiyonları, en sık 5-24 ay yaş grubundaki çocuklarda (Balkan vd., 2012) ve k, aylarında (Biçer vd., 2006; Balkan vd., 2012) görüldü ü nü rapor etmiştir.

2.5. Enzim Bağlı İmmünoabsorbent Analizi (ELISA)

Akut gastroenterit viral etkenlerinin rutin tanısında en çok kullanılan yöntemlerden biri ELISA yöntemidir. Bu yöntemde, antijen ya da antikor bir enzimle etiketlenmekte ve immunolojik reaksiyon, enzimatik bir aktivite sonucu ölçülmektedir. ELISA testinin direkt, indirekt ve sandviç ELISA gibi farklı şekilleri olmasına rağmen en sık kullanılan, sandviç ELISA yöntemidir (Aras, 2011).

Saha spesifik olarak ELISA testinin prensibi; üpheli antijen ve ya antikorun homologu olan enzimle etiketli bir konjugata bağlanması, ve bu bağlantı substrat adı verilen kimyasal bir madde yardımıyla renginin değiştirilip görünür hale getirilmesidir (Öztürk, 2002).

Direkt sandviç ELISA testinde özel monoklonal antikor (tersi durumunda antijen) ile kaplı mikrotitre plakasının kuyucuklarına analizi yapılacak numune aktararak, yüzeye tutunmuş olan antikorun numunedeki özel antijene bağlanması sağlanmaktadır. Ardından kuyucuklara tekrar enzimle etiketli ve antijenin farklı bir bölgesine özelleştirilmiş poliklonal antikor ilave edilmektedir. Kuyucuklara ilave edilen kromojenik madde içeren substratın enzimle olan reaksiyonu sonucu antijen derinliği ile doğru orantılı olarak renk değişimi gözlenmektedir. Ortaya çıkan rengin yoğunluğu, belirli bir dalga boyunda kolorimetrik yöntemle ölçülmektedir (ekil 2.5) (Eyquem, 2016).



ekil 2.5. (a) Antikorla kaplanm, kuyucuk yüzeyi, (b) önekteki antijenin antikora ba lanmas,, (c) enzim ba l, (yaban turpu peroksidaz,, HRP) antikorun antijene ba lanmas, ve (d) enzimin ortama eklenen substratla (H_2O_2) reaksiyona girmesi sonucu olu an ürünün (O_2) ortamda bulunan kromojenik maddenin (tetrametilbenzidin, TM) renk de i tirmesini sa lamas, (Eyquem, 2016)

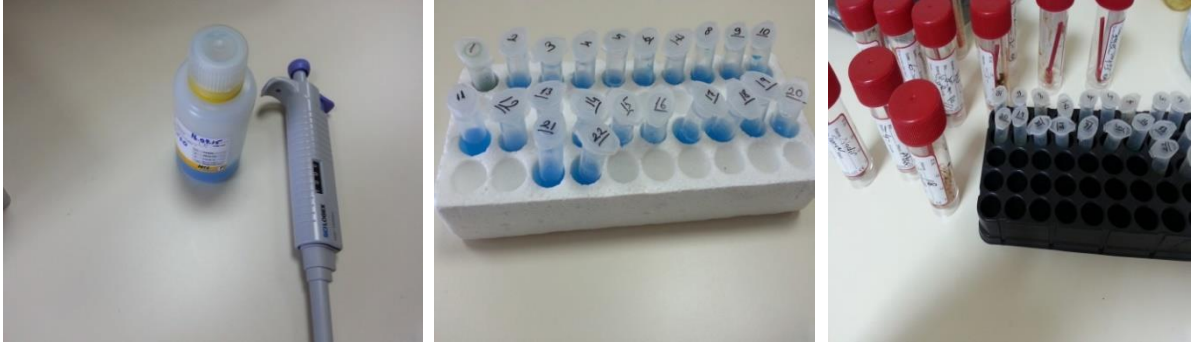
3. MATERYAL YÖNTEM

3.1. Örneklem ve Materyal

Ara tırman, n örneklemine Burdur il merkezi ve Bucak ilçesindeki bulunan 5 farklı, süt ürünleri i letmesinde çal, an ya lar, 20-59 aras,nda olan 47 personel (4 bayan ve 43 erkek) olu turmu tur. İlgili çal, anlar, n Eylül-Kas, m 2015 aylar, aras,nda toplanan el swab, ve gaita örneklerinde astrovirüs (Ridascreen®, Katalog No: C1301, Lot No: 15464E R-, Biopharm AG, Almanya), norovirüs (Ridascreen®; kat. No: C1401, Lot No: 154641 R- Biopharm AG, Almanya) ve rotavirüs (Ridascreen®; kat. No: C0901, Lot No: 12504E R- Biopharm AG, Almanya) taramalar, ticari ELISA kitleriyle yap, lm, t, r. Çal, an personel konu hakk,nda bilgilendirilerek, her personelin çal, t, , i letme/bölüm, ad, soyad,, cinsiyeti, ya ,, e itim durumu, hijyen e itimi al, n, p al, nmad, ,, eldiven kullan, p kullanmad, ,, sigara kullan, m durumlar, ile çal, man, n yap, ld, , dönemde ishal, kusma ve kar, n a r, s, gibi semptomlar, n varl, , daha önce haz, rlan, lan anket çizelgesi (EK 1 ó ekil 3.1) e li inde kaydedilmi tir.

3.2. Gaita Örneklerinin Toplanması,

Burdur il merkezi ve Bucak ilçesindeki süt ürünleri i letmelerinde çal, an 47 personelden steril, s, zd, rmaz kapaklı, ve ka , kl, gaita kaplar, na yakla , k 100 mg olacak ekilde gaita örnekleri toplanm, t, r. Toplanan bu gaita örnekleri Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dal, Ara tırma Laboratuvar, na so uk zincir alt, nda getirilmi tir. Laboratuvarda gaita örnekleri içlerinde 1000 µL Diluent 1 bulunan Eppendorf tüplerine aktar, lm, ve 2 dakika vortekslenerek homojen bir kar, m elde edilmi tir. Daha sonra 400 rpmøde 5 dakika mikrosantrifüj cihaz, (WiseSpin, CF-10, Daihan, Kore) ile santrifüjlenen numunelerin üst fazlar, ndan (dipteki çökelti kalacak eklide) 1000 µL al, narak yeni ependorf tüplerine aktar, lm, (ekil 3.1) ve örnekler ELISA analizlerine kadar -20°Cøde muhafaza edilmi tir.



a

B

c



d



e

ekil 3.1. a) Diluent 1, b) 1000 μ L diluentli Eppendorf tüpleri, c) Steril kapaklı, ka ,kl, kaplardaki gaita örnekleri ve aktar,laca , Eppendorf tüpleri, d) Eppendorf tüplerine aktar,lan gaitalar,n homojen kar, ,m elde edilmek için vortekslenmesi, e) Vortekslenen Eppendorf tüplerinin kat, partiküllerin dibe çökmesi için 400 rpmde 5 dakika mikrosanrifüjlenmesi

3.3. El Swap Örneklerinin Toplanması,

Steril swap tüplerine diluent 1den 1000 μ L aktar,lm, ve bu ekilde haz,rlanan swaplar çal, man,n gerçekle tirilece i i letmelere götürülmü tür. Swaplar laboratuvar ve i letmeler aras,nda so uk zincir alt,nda ta ,nm, t,r. letmelerde personelin avuç içleri, parmak aralar,, elin d, yüzü ve t,rnak aralar,ndan swap örnekleri al,nm, t,r. Laboratuvara getirilen örnekler, 1-2 dakika vorteksledikten sonra swaplar tüplerinden ç,kar,lm, t,r. Swaplar,n pamuklu k,sm, steril makasla kesilmi ve kesilen k,s,m yeni bir Eppendorf tüpüne konulmu tur. Ard,ndan Eppendorf tüpüne swap tüpünde kalan Diluent 1

aktar,lm, t,r. Tüp 2 dakika vortekslendikten sonra 400 rpmøde 5 dakika mikrosantrifüj cihaz, (WiseSpin, CF-10, Daihan, Kore) ile santrifüj edilmi tir. Daha sonra üst fazda kalan s,v,n,n tamam, (yakla ,k 1000 µL) yeni Eppendorf tüpüne aktar,lm, (ekil 3.2) ve haz,rlanan ektsraktlar -20°Cøde analiz edilinceye kadar saklanm, t,r.



a



B



c



D

ekil 3.2. a) Swap çubuklar,n,n Eppendorf tüplerine akt,r,lmadan homojen kar, ,m için vortekslenmesi, b) Swaplar,n pamuklu k,s,mlar,n,n Eppendorf tüpünde kalacak ekilde kesilmesi, c) Swap uçlar,n,n Eppendorf tüplerine aktar,lm, hali, d) Vortekslenen Eppendorf tüplerindeki kat, partiküllerin dibe çökmesi santrifüjlenmesi

3.4. Enzim Ba 1, mmünosorbent Analizi (ELISA)

ELISA kitleri, gaita ve el swap örnekleri uygulama öncesi derin dondurucudan (20°C) ç,kar,l,p oda ,s,s,na (20-25°C) gelmesi için 1 saat bekletilmi tir.

3.4.1. ELISA Yöntemi ile Virüs Antijenlerinin Aranması,

Örneklerdeki astrovirüs, norovirüs ve rotavirüs antijenlerinin aranması için Ridascreen marka (s,ras,yla Kat. No: C1301, C1401, C0901) ticari ELISA kitleri kullanılm, t,r. Kullanılan kitlerin içerikleri Çizelge 3.1 ve ekil 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çal, mada kullanılan ticari ELISA kitlerinin içerikleri

Kit Ad,	Kit Bile ni	Aç,klama
Astrovirüs Kiti	ELISA plakası,	96 kuyulu plak (monoklonal anti-astrovirüs antikorlar, ile kaplanm,)
	Diluent 1 Y,kama	Örnek seyreltme tamponu (protein tamponlanm, NaCl çözeltisi) Y,kama tamponu, fosfat tamponlanm, NaCl çözeltisi, %0,1 thimerosal içermektedir
	Pozitif kontrol	naktive edilmi astrovirüs kültürü
	Negatif kontrol	Örnek seyreltme tamponu
	Konjugat 1	Stabilize protein çözeltisi içerisinde biyotinle konjuge edilmi monoklonal anti-astrovirüs antikorlar,
	Konjugat 2	Stabilize protein çözeltisi içerisinde streptavidin poliperoksidaz konjugat,
	Substrat Durdurma çözeltisi	H ₂ O ₂ 1 N H ₂ SO ₄
Norovirüs Kiti	ELISA plakası,	96 kuyulu plak (Norovirüslere kar , monoklonal antikorlar, ile kaplanm,)
	Diluent 1 Y,kama	Örnek seyreltme tamponu (protein tamponlanm, NaCl çözeltisi) Y,kama tamponu, fosfat tamponlanm, NaCl çözeltisi, %0,1 thimerosal içermektedir
	Pozitif kontrol	Norovirüs kapsid proteini
	Negatif kontrol	Örnek seyreltme tamponu
	Konjugat 1	Stabilize protein çözeltisi içerisinde Norovirüslere kar , biyotinle konjuge edilmi antikorlar
	Konjugat 2	Stabilize protein çözeltisi içerisinde streptavidin peroksidaz konjugat,
	Substrat Durdurma çözeltisi	H ₂ O ₂ 1 N H ₂ SO ₄
Rotavirüs Kiti	ELISA plakası,	96 kuyulu plak (monoklonal anti-rotavirüs antikorlar, ile kaplanm,)
	Diluent 1 Y,kama	Örnek seyreltme tamponu (protein tamponlanm, NaCl çözeltisi) Y,kama tamponu, fosfat tamponlanm, NaCl çözeltisi, %0,1 thimerosal içermektedir
	Pozitif kontrol	naktive edilmi rotavirüs kültürü
	Negatif kontrol	Örnek seyreltme tamponu
	Konjugat 1	Stabilize protein çözeltisi içerisinde rotavirüsler için biyotinle konjuge edilmi monoklonal antikorlar
	Konjugat 2	Stabilize protein çözeltisi içerisinde streptavidin poliperoksidaz konjugat,
	Substrat Durdurma çözeltisi	H ₂ O ₂ 1 N H ₂ SO ₄



A



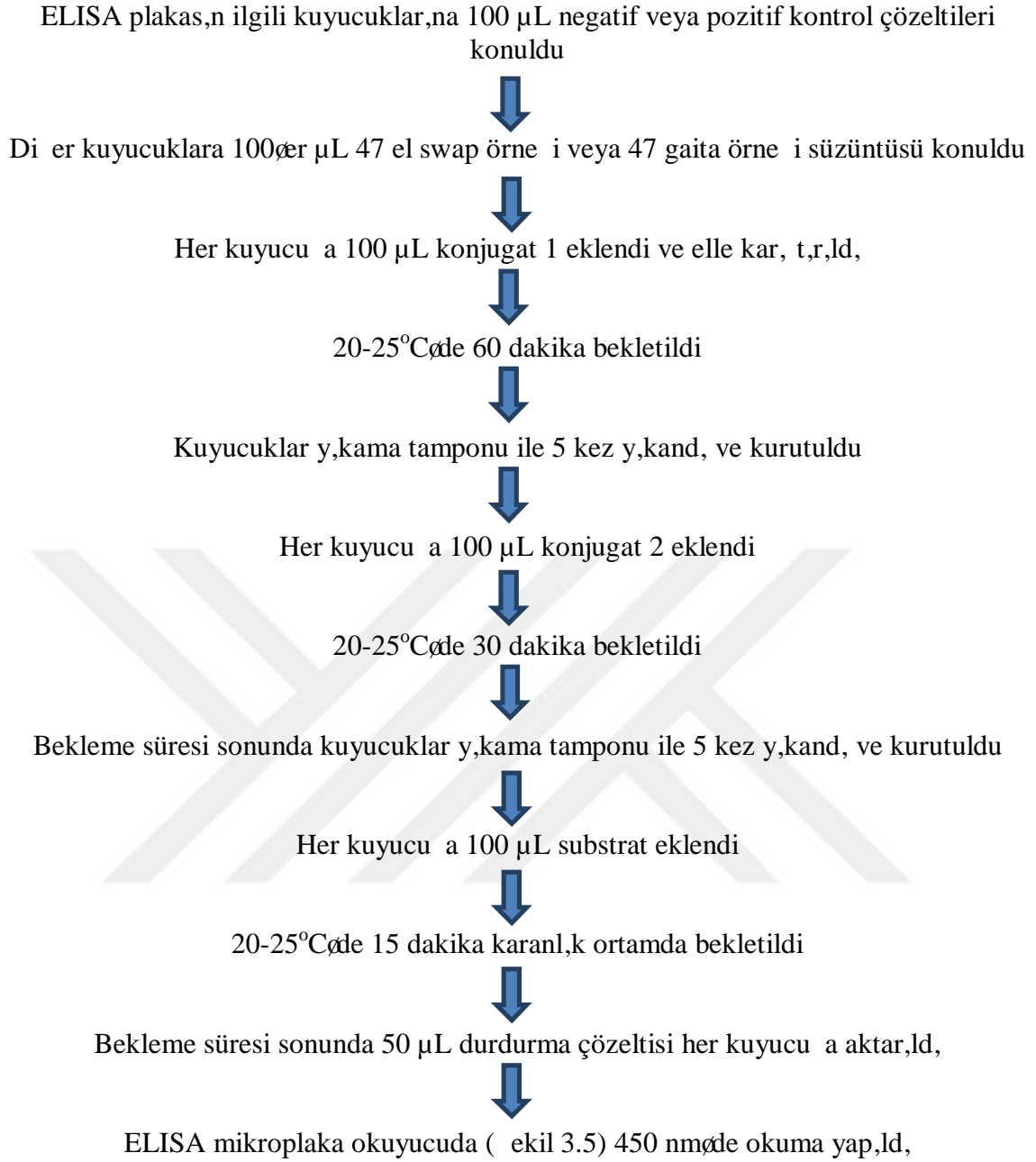
B



C

ekil 3.3. Ara t,rmada kullan,lan a) astrovirüs, b) norovirüs ve c) rotavirüs kitleri

Virüs antijenlerinin aranmas, için ELISA analizleri üretici firman, n önerdi i prosedür do rultusunda ekil 3.4'de aç,kland, , ekilde yap,lm, t,r.



ekil 3.4. Virüs antijenlerinin aranması için ELISA analizlerinin uygulanması,



ekil 3.5. Ara t,rmada kullan,lan ELISA mikroplaka okuyucu (MR-96A, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Çin)

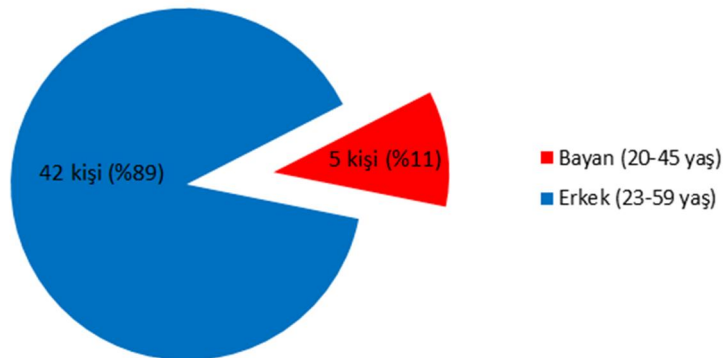
4. ARA TIRMA BULGULARI

Çal, mada Burdur il merkezi ve Bucak ilçe merkezinde bulunan 5 farklı, süt ve süt ürünleri i letmesinde çal, an toplam 47 personelin gaita ve el swab, örneklerinde astrovirüs, norovirüs ve rotavirüs varl, , ELISA yöntemi ile ara t,r,lm, t,r. Ayr,ca ara t,r,maya kat,lan personele yöneltilen anket sorular, ile her bir çal, an,n çal, t, , bölüm, ad, soyad,, cinsiyeti, ya ,, e itim durumu, hijyen e itimi al,n,p al,nmad, ,, eldiven kullan,p kullanmad, ,, sigara kullan,m durumlar, ile çal, man,n yap,ld, , dönemde ishal, kusma ve kar,n a r,s, gibi semptomlar,n varl, , belirlenmi tir.

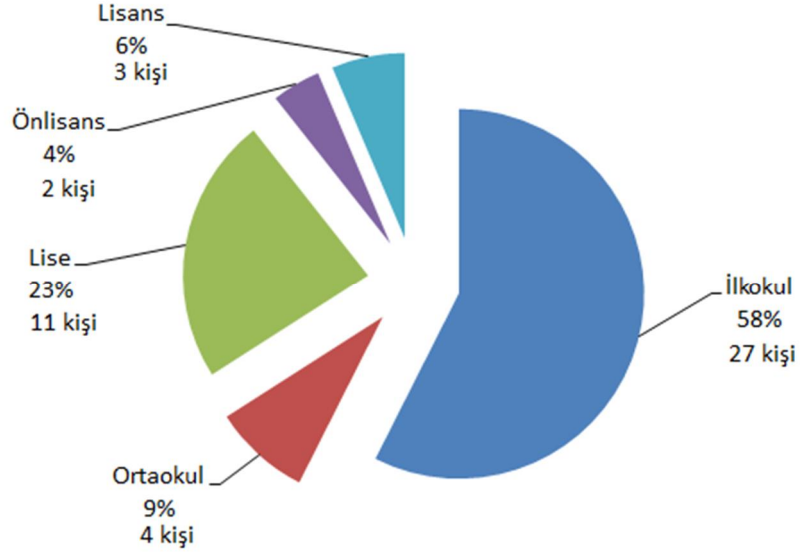
Ara t,rma kapsam,nda olan her bir i letmeden çal, maya kat,lan, sigara kullanan, hijyen e itimi alan ve çal, ma esnas,nda eldiven kullanan personel say,lar, Çizelge 4.1'de, çal, anlar,n cinsiyet ve ya da ,l,mlar, ile e itim durumlar, ekil 4.1 ve 4.2'de verilmi tir.

Çizelge 4.1. Çal, maya kat,lan, sigara kullanan, hijyen e itimi alan ve çal, ma esnas,nda eldiven kullanan personel say,lar,

İletme Ad,	Çal, maya Kat,lan Personel Say,s,	Sigara Kullanan Personel Say,s,	Hijyen E itimi Alan Personel Say,s,	Eldiven Kullanan Personel Say,s,
İletme 1	14	10	11	13
İletme 2	10	4	10	10
İletme 3	8	5	8	8
İletme 4	8	5	5	8
İletme 5	7	4	6	7
Toplam	47	28	40	46



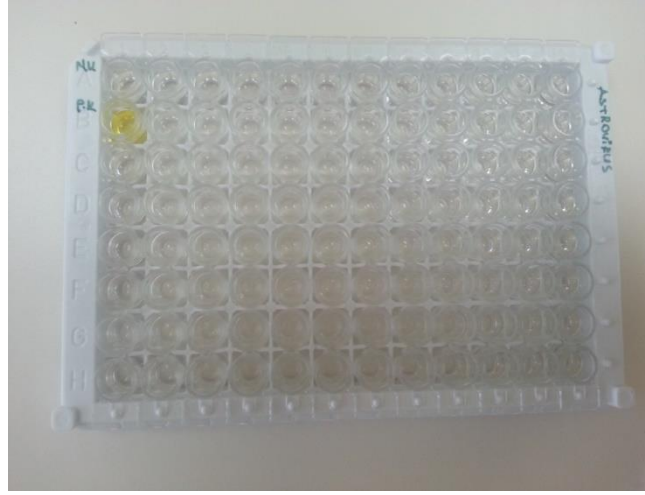
ekil 4.1. Çal, maya kat,lan personelin cinsiyet da ,l,m, ve ya aral,klar,



ekil 4.2. Çal, maya kat,lan personelin e itim durumlar,

Çal, ma kapsam,nda olan personelden 42 kiinin s,kl,kla ve 4 kiinin de nadiren eldiven kullandı, ,, 7 kiinin hijyen e itimi almad, ,, hijyen e itimi almayanlardan 2 kiinin de hiç eldiven kullanmad, , tespit edilmiştir. Eldiven kullanmayan 1 personelin üretim ve 1 personelin de makine bak,m bölümü çal, an, oldu u görülmü tür. Hijyen e itimi alan üretim bölümü personelinden 1 kiinin hiç eldiven kullanmad, , ve 3 kiinin de nadiren eldiven kullandı, , belirlenmiştir.

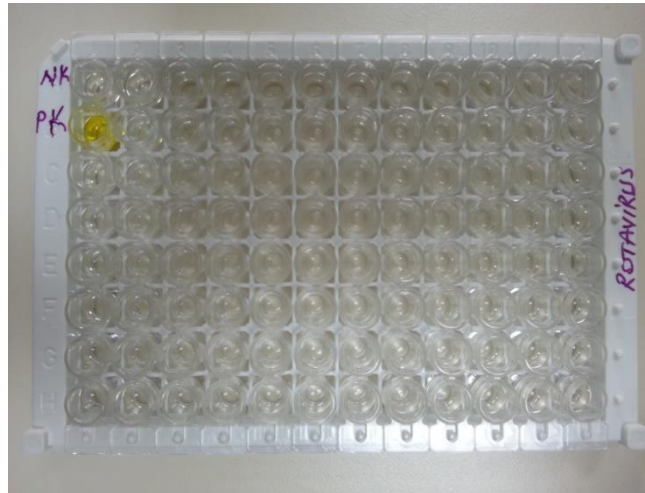
Ara t,rman,n yürütüldü ü dönemde 3 personelin ishal, 2 personelin kusma ve 4 personelin de kar,n a r,s, ikâyetleri oldu u ilgili personelin anket sorular,na verdi i cevaplardan anla ,lm, t,r. Çal, anlar,n elleri ve gaitalar,ndan alınan örneklerde astrovirüs, norovirüs ve rotavirüs antijenlerinin varl, , ile ilgili ELISA testi sonuçlar, Çizelge 4.2øde verilmiştir. Ayr,ca ilgili virüslerin antijenlerinin swap ve gaita örneklerindeki bulunma durumunu gösteren mikropkaka sonuç foto raflar, ekil 4.3øte gösterilmiştir.



a



b



c

ekil 4.3. (a) Astrovirüs, (b) norovirüs ve (c) rotavirüs antijenlerinin swap ve gaita örneklerindeki bulunma durumunu gösteren mikropilaka sonuç foto raflar,

Ara tırma kullanılan ELISA kitlerinin kullanım kılavuzlarında, sonuçların doğru ve güvenli olabilmesi için 450 nm'de negatif kontrolün optik yoğunluk değerinin (OD) 0,2'den daha düşük ve pozitif kontrolün OD değerinin 0,8'den daha büyük olması gerektiği belirtilmiştir. Çalışmamızda her bir virüs için ilgili değerlerin yukarıda belirtilen sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2).



Çizelge 4.2. ELISA mikropilaka okuyucuda el ve gaita süzüntüsü örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri*

	Astrovirüs (El)	Astrovirüs (Gaita)	Norovirüs (El)	Norovirüs (Gaita)	Rotavirüs (El)	Rotavirüs (Gaita)
PK	1,443		2,694		1,239	
NK	0,045		0,045		0,035	
1	0,067	0,045	0,069	0,058	0,075	0,047
2	0,072	0,057	0,064	0,056	0,054	0,054
3	0,053	0,052	0,065	0,054	0,052	0,051
4	0,043	0,052	0,050	0,058	0,038	0,056
5	0,061	0,046	0,068	0,044	0,058	0,049
6	0,055	0,062	0,063	0,060	0,054	0,060
7	0,042	0,061	0,042	0,062	0,039	0,058
8	0,058	0,034	0,050	0,033	0,047	0,040
9	0,063	0,051	0,059	0,055	0,056	0,041
10	0,067	0,052	0,069	0,060	0,053	0,052
11	0,050	0,064	0,056	0,052	0,054	0,051
12	0,048	0,057	0,044	0,050	0,045	0,050
13	0,061	0,050	0,065	0,044	0,060	0,043
14	0,055	0,060	0,063	0,063	0,058	0,062
15	0,033	0,063	0,034	0,057	0,036	0,051
16	0,046	0,057	0,054	0,037	0,046	0,031
17	0,052	0,047	0,055	0,057	0,062	0,050
18	0,051	0,056	0,053	0,062	0,056	0,055
19	0,054	0,057	0,052	0,059	0,051	0,051
20	0,046	0,052	0,042	0,050	0,042	0,051
21	0,075	0,049	0,061	0,041	0,057	0,048
22	0,061	0,062	0,060	0,056	0,055	0,060
23	0,048	0,058	0,032	0,074	0,031	0,057
24	0,082	0,039	0,046	0,044	0,051	0,033
25	0,060	0,046	0,053	2,034**	0,056	0,041
26	0,057	0,055	0,054	0,057	0,057	0,052
27	0,064	0,054	0,050	0,053	0,049	0,052
28	0,050	0,058	0,043	0,055	0,043	0,054
29	0,069	0,047	0,059	0,044	0,063	0,043
30	0,066	0,066	0,061	0,062	0,058	0,058
31	0,044	0,058	0,031	0,058	0,035	0,055
32	0,051	0,037	0,054	0,060	0,048	0,036
33	0,054	0,052	0,060	0,059	0,053	0,047
34	0,049	0,059	0,052	0,056	0,049	0,052
35	0,060	0,071	0,054	0,058	0,062	0,052
36	0,050	0,058	0,045	0,050	0,045	0,051
37	0,066	0,044	0,061	0,043	0,060	0,043
38	0,083	0,071	0,060	0,056	0,056	0,056
39	0,035	0,062	0,037	0,057	0,033	0,054
40	0,047	0,046	0,059	0,035	0,055	0,037
41	0,056	0,045	0,051	0,054	0,055	0,049
42	0,052	0,064	0,052	0,054	0,053	0,053
43	0,059	0,053	0,051	0,051	0,051	0,053
44	0,046	0,065	0,047	0,047	0,042	0,055
45	0,073	0,041	0,066	0,036	0,059	0,041
46	0,057	0,059	0,054	0,060	0,057	0,056
47	0,041	0,072	0,032	0,055	0,036	0,051

*PK: pozitif kontrol de eri, NK: negatif kontrol de eri, **: pozitif sonuç

ELISA mikrolaka okuyucuda elde edilen OD de erlerinden yola ç,k,larak her bir virüs antijeni pozitifli inin de erlendirilmesi için öncelikle e ik de erlerin (cut-off value) hesaplanmas, gerekmektedir. E ik de eri hesaplanmas, için kullan,lan e itlik a a ,da verilmi tir (Anonim, 2015a).

$$E ik de eri = Negatif kontrolün OD de eri + 0,15$$

Mikrolaka okuyucuda 450 nmøde belirlenen OD de erlerinin virüs antijeni varl , aç,s,nda pozitif olarak de erlendirilebilmesi için OD de erinin hesaplanan e ik de erin %10øndan daha fazla olmas, gerekmektedir (Anonim, 2015a). Kitlerin kullan,m k,lavuzlar,nda belirtilen yöntemle her bir virüs için e it de erler ve bu de erlerden %10 fazla olan de erler a a ,daki ekilde hesaplanm, t,r.

$$E ik De er_{AsV} \times 1,1 = (0,045 + 0,15) \times 1,1 = 0,2145$$

$$E ik De er_{NoV} \times 1,1 = (0,045 + 0,15) \times 1,1 = 0,2145$$

$$E ik De er_{RoV} \times 1,1 = (0,035 + 0,15) \times 1,1 = 0,2035$$

Yukar,da elde edilen de erler ile Çizelge 4.2øde verilen OD de erleri kar ,la t,r,ld ,nda yaln,zca bir gaita örne i süzüntüsünde norovirüs için belirlenen OD de erinin (2,034) virüs antijeni varl , aç,s,ndan pozitif olarak de erlendirilece i sonucuna var,lm, t,r.

5. TARTI MA

Yapılan ara tırmada, 5 farklı süt i letmesi çal, anlarından 1 personelin gaitasında norovirüs antijeni tespit edilmiş, 46 personelin gaitasında ve 47 personelin elinde astrovirüs, norovirüs ve rotavirüs antijenlerine rastlanmamıştır. Yapılan anket çal, masına göre gaitasında norovirüs antijeni tespit edilen kişinin 34 yaşında erkek ve lise mezunu bir birey olduğu, çal, manın yapıldığı dönemde ishal, kusma ve karın ağrısı, şikayetlerinin görüldüğü, kişinin sigara kullandığı, hijyen e itimi almadığı, ve çal, rken eldiven kullandığı belirlenmiştir.

İletmelerde çal, an personelin ellerinde ara tırma kapsamında olan virüs antijenlerine rastlanmaması, personelin genel olarak iyi hijyen uygulamaları kapsamında çal, tırnı göstermektedir. İletmelerde eldiven kullanan personel oranının ~%98 ve hijyen e itimi alma oranının %85 olması çal, ma sonuçlarıyla uyumludur.

Norovirüs antijeni saptanan çal, anın çal, manı yapıldığı dönemde ishal, kusma ve karın ağrısı, şikâyetleri olduğu bildirilmesine rağmen çal, mayaya devam etmesi personel hijyeni kurallarına uygun değildir. Zira özellikle bulantı, kusma ve ishal rahatsızlıkları olan kişilerin bulaşma riski ve taşıyıcı olmaları nedeniyle üretim alanında çal, malar, iyi hijyen uygulamaları gereği olarak uygun değildir. Bu kişilerin hastalıkları ve belirtileri hakkında i letme sorumluların bilgilendirmeleri gereklidir (ASÜD, 2010). İlgili kişinin muhtemel gastroenterit belirtilerine rağmen çal, mayaya devam etmesinin nedenlerinden biri hijyen e itimi almaması olabilir. Yine bu personelin hijyen e itimi almaması çal, manı yapıldığı dönemde norovirüsün sonrasında da gastroenterit etkeni olan diğer virüslerin i letmede çal, an diğer personele, temas edilen yüzeyler ve süt ürünlerine kontaminasyon potansiyelinin olduğu göstermektedir. Zira viral etmenler enfeksiyonun semptomları ortadan kalksa bile bir süre daha (örneğin norovirüs hastalığıyla mesinden sonra en az 3 hafta daha) gaita ile atılmaya devam etmektedir (Koopmans vd., 2004).

Bilgilerimize göre günümüze kadar yapılan çal, malarda süt ve süt ürünleri kaynaklı viral bir salgın bildirilmemiştir. Bu yüzden bu yönlü çal, mamız ilk olma özelliği taşımaktadır. Gıda kaynaklı viral enfeksiyon ve salgınların oluşmasında önemli görülen gıdalar kabuklu deniz hayvanları (özellikle istiridye), meyve suları, içme suyu (Hedberg ve Osterholm, 1993; Fleet vd., 2000), meyve ve sebzeler (marul, domates, ahududu), soğukta saklanan gıdalar (Hedberg ve Osterholm, 1993; Scherer vd., 2009; Loutreul vd., 2014),

tatlılar, salatalar, sandviçler (Koopmans vd., 2002), buz küpleri ve fırıncılık ürünleridir (Koopmans vd., 2004).

Gıda kaynaklı, viral bulaşmalar kontamine gıdaların tüketilmesiyle oluşmakta ve gıdalardaki kontaminasyon, üretimde çalışan enfekte personelin virüsü bulaştırması, ya da ürünlerin marketlere taşınmasından önce çapraz kontaminasyon ile meydana gelmektedir. Çapraz kontaminasyon, virüsün personelin eli, alet ekipman ve gıdanın temas ettiği yüzeylerden gıdalara bulaşması, sonucunda eklenmektedir (Todd vd., 2007). Bunun yanında gıdalara viral bulaşmanın tarladan çatala gıda zincirinin bütün amaçlarında meydana gelebileceği unutulmamalıdır (Koopmans vd., 2002).

Viral etmenler gıdalara, gaita veya kanalizasyon suyu bulaşması ya da gaita bulaşması, sularla temas, gaita ile kirlenmiş materyallere (ellerde dahil) temas, kusmuk ya da kusmuk bulaşması, su ile temas ve enfekte kişilerin bulunduğu ortamlarda bulunma gibi yollarda bulaşmaktadır. Hayvanlarla doğrudan ya da hayvansal ürünlerle dolaylı temas durumunda virüslerin gıda kaynaklı hastalıklara neden olduğu ile ilgili kanıtlar bulunmamasına karşın söz konusu durumlar da viral enfeksiyon ve salgınlar için potansiyel risk teşkil etmektedir. Bununla beraber gıdalara virüslerin bulaşmadaki başlıca yolun gıda ile temas eden enfekte kişiler olduğu birçok çalışmada belirlenmiştir (Hedberg ve Osterholm, 1993; Koopmans vd., 2002).

Süte bulaşan virüsler süt içerisinde çoğalamamakta ancak uzun süreler canlılıklarını sürdürebilmektedir. Sımsal hayvanlardan süte bulaşabilen ve çok düşük dozlarda enfeksiyon nedeni olabilen virüsler süte uygulanan pastörizasyon işlemi ile inaktive edilmektedir (Hassan ve Frank, 2011). Süt, rotavirüs gibi bazı virüsler için taşıyıcı olabilir. Ancak sütün içerisinde bulunan immüoglobülinler (IgG) gibi bazı antiviral antikorların varlığı, sütü taşıyıcıktan korumaktadır (Hassan ve Frank, 2011). Dolayısıyla süt ve süt ürünleri kaynaklı viral etkenler çoğunlukla pastörizasyon işlemi sonrasında personelden kaynaklanan çapraz kontaminasyon (özellikle elle temas olduğu peynirlerin kalıplanması ve ambalajlama amaçları, süzme yoğurt üretimi esnasında ambalajlama sırasında kişilerin ürünlere çeyrekli nedenlerle elle teması) ile yine pastörizasyon ya da sterilizasyon sonrası alet-ekipman ve gıdanın temas ettiği yüzeylerden yayılmaktadır.

Viral kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi, ancak hijyen ve sanitasyon standartlarının yükseltilmesi ile gerçekleştirilebilir (Koopmans vd., 2004; Uyar vd., 2008; Yaprak 2011). Bunun için el temizliğine dikkat edilmesi, antiviral etkili yüzey ve el

dezenfektanlar, kullanılması, ve enfekte personelin muhtemel bulaşma kaynağı, olduğundan enfeksiyon dönemlerinde ve sonrasında belirli bir dönemde çalıştırılmamasının son derece önemli olduğu bildirilmektedir (Uyar vd., 2008; Yaprak, 2011).

Eller virüslerin yayılmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Gıda kaynaklı, viral enfeksiyonların ve salgınların engellenmesi için en etkili yöntemlerden birisi ellerin uygun şekilde dekontamine edilmesidir. Ellerin doğru biçimde dekontamine edilmesi için 3 temel husus; (i) etkili bir dezenfektan ajanın kullanılması, (ii) eğitim ve uygun kullanım talimatları, ve (iii) ellerin düzenli temizliği ve dekontaminasyonudur (Papafragkou vd., 2006). El temizliği çalışmaları, insanların el hijyeni konusunda eğitilmesi son derece önemlidir. Örneğin, yemek yedikten sonra kurutulmayan eller üzerinde kalan kalıntıların, nemli virüslerin transferinde önemli bir rol oynadığı, belirlenmiştir (Springthorpe ve Sattar, 1998). Yine ellerin su ve sabunla yıkanmasından sonra kurulma yapılmazsa ellerdeki rotavirüsün %77, sıcak hava ile kurutulursa %92, kağıt havlu ile kurutulursa %87 ve el havlusu ile kurulursa %80 oranında azaldığı, bildirilmektedir (Papafragkou vd., 2006).

6. SONUÇ

Çal, ma sonucunda Burdur il merkezi ve Bucak ilçe merkezinde kurulu 5 farklı, süt ve süt ürünleri i letmesinde çal, an toplam 47 personelin el ve gaita örnekleri astrovirüs, norovirüs ve rotavirüs varl, , aç,s,ndan incelenmi ve yalnızca 1 personelin gaitas,nda norovirüs antijeni tespit edilmi tir. Çal, mada incelenen di er el swap örnekleri ile gaita örneklerinde astrovirüs, norovirüs ve rotavirüs antijenlerine rastlanmam, t,r. Yap,lan anket çal, mas,nda çal, an 47 personelden 42'sinin s,kl,kla, 4'ünün de nadiren eldiven kulland, , belirlenmi tir. Çal, maya kat,lan 47 personelden 7'sinin hijyen e itimi almad, ,, hijyen e itimi almayanlardan 1 ki inin de eldiven kullanmad, , tespit edilmi tir. Yine gaitas,nda norovirüs antijeni tespit edilen personelin hijyen e itimi almad, , görülmü tür.

Çal, ma kapsam,nda olan g,da i letmelerinde çal, an personel ile çal, ma ortamlar,n,n virolojik aç,dan hijyenik ko ullar bak,m,ndan uygun ve yeterli oldu u söylenebilir. Ancak bir i letme çal, an,n,n gaitas,nda norovirüs antijeninin tespit edilmesi i letme personeline ve personelin üretim zincirinde özellikle ambalajlama s,ras,nda temas etti i g,da maddelerine viral bula ma potansiyelinin yüksek oldu unu göstermektedir. Bu nedenle g,da i letmelerinde hijyen e itimi muhtemel enfeksiyon ve salg,nlar,n önlenmesi ve i gücü kay,plar,n,n engellemesi aç,s,ndan son derece önemlidir.

Literatürde g,dalar,n i lenmesi s,ras,nda mikrobiyal inaktivasyon için kullan,lan yöntemler ile virüslerin 3 logaritmik birimden daha fazla inaktive edilemeyece i (ultra yüksek s,cakl,k, UHT i lemi hariç) bildirilmektedir (Koopmans vd., 2004). Bu nedenle g,da i letmelerinde do ru yap,lacak iyi hijyen uygulamalar, (GHP), iyi üretim uygulamalar, (GMP) ve HACCP (Tehlike analizi ve kritik kontrol noktalar,) uygulamalar, ile g,dalara i leme öncesi ya da i leme s,ras,nda virüslerin kontaminasyonun önlenmesinin viral enfeksiyon ve salg,nlar,n önlenmesinde en etkili yöntem oldu u söylenebilir.

Sonuç olarak süt ve sütü ürünleri i letmelerinin de ierisinde bulundu u bütün g,da i letmelerinde personel hijyeni ve hijyenik çal, ma ko ullar,n,n sa lanmas, ve buna yönelik e itimlerin yap,lmas,n,n viral kaynakl, g,da enfeksiyonlar,n,n önlenmesinde en etkili uygulama olaca , söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Akhter, S., Türegün, B., Kyan, M., Gerçekler, D., Güriz, H., Şahin, F., 2014. Beş yaş altı çocuklarda gastroenterite neden olan yedi farklı RNA virusunun araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 48 (2), 233-241.
- Albayrak, N., Çalın, Y.D., Altın, A.B., Korukluoğlu, G., Ertek, M., 2011. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68 (1), 9-15.
- Altay, A., Bozdayı, G., Meral, M., Bilge, D.Y., Dalgıç, B., Özkan, S., Ahmed, K., 2013. Akut gastroenterit nedeniyle Ankara'da iki farklı hastaneye başvuran 0-5 yaş arası çocuklarda norovirus enfeksiyonu sıklığı araştırılması. *Mikrobiyol Bülteni*, 47(1), 98-108.
- Altın, M., Bányai, K., Kalaycı, R., Gulamber, C., Koken, R., Yoldas, Y., Aykurt, R., Martella, V., 2009. Frequency of norovirus in stool samples from hospitalized children due to acute gastroenteritis in Anatolia, Turkey, 2006-2007. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 41(9), 685- 688.
- Altın, M., 2006. Rotavirus enfeksiyonları ve epidemiyolojisi. *TMC Mikrobiyoloji Haber Dergisi*, 3(8), 10.
- Anonim, 2015a. Ridascreen Astrovirus (C1301) Instructions Document, R-Biofarm AG, Darmstadt, Germany.
- Anonim, 2015b. Norovirus Enfeksiyonunun Mikrobiyolojik Tanımlanması. *T.C. Sağlık Bakanlığı, Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS)*.
- Aras, Z., 2011. Mikrobiyolojide kullanılan hızlı tanı yöntemleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68 (2), 97 - 104.
- ASÜD, 2010. Süt ve Süt Ürünleri için Hijyen Uygulamaları Rehberi, Rehber No: 7, Ambalajlı Süt ve Süt Ürünleri Sanayicileri Derneği, www.asuder.org.tr (Erişim Tarihi: 02.02.2016)
- Atalay, A.M., Kandemir, S., Gökahmetoğlu, S., 2013. Üçüncü basamak bir hastanedeki gastroenteritli çocuklarda rotavirüs enfeksiyonu sıklığı araştırılması. *Dicle Tıp Dergisi*, 40(2), 212-215.
- Balkan, Ç.E., Çelebi, D., Çelebi, Ö., Altıparlak, Ü., 2012. Erzurum'da 0-5 yaş arası çocuklarda rotavirus ve adenovirus sıklığı araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 42(2), 51-54.
- Biçer, S., Bezen, D., Yavuzcan, D., Tekgündüz, S.A., Ulucaklı, Ö., Engerek, N., Aldemir, H., 2006. Acil çocuk servisindeki akut gastroenterit olgularında rotavirus ve adenovirus enfeksiyonları. *ANKEM Dergisi*, 20(4), 206-209.

- Bishop, R.F., Davidson, G.P., Holmes, I.H., Ruck, B.J., 1973. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *The Lancet*, 302, 1281-1283.
- Bonkougou, I.J.O., Sanou, I., Bon, F., Benon, B., Coulibaly, S.O., Haukka, K., Traoré, A.S., Barro, N., 2010. Epidemiology of rotavirus infection among young children with acute diarrhoea in Burkina Faso. *BioMed Central*, DOI: 10.1186/1471-2431-10-94.
- Burgu, ., Akça, Y., 2004. Viroloji-II Kitab., *Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dal.*, 115.
- CDC, 2016. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA, <http://www.cdc.gov/norovirus/> (Eri im Tarihi: 16.03.2016).
- Clark, B., McKendrick, M., 2004. A review of viral gastroenteritis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17, 461.
- Clark, I.N., Lambden P.R., Caul E.O., 1998. Human enteric RNA viruses: Caliciviruses and astroviruses. In: Collier L, Ballows A, Sussman M. (Editors). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 9th edn, London: Edward Arnold, pp. 511-535.
- Cukor, G., Blacklow, N.R., 1984. Human Viral Gastroenteritis. *Mikrobiological Reviews*, 48, 157.
- Çelik, ., 2014. Virüsler. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 562.
- Dormitzer, P.R., 2005. Rotaviruses. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th Edition. (Eds. Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R.), Elsevier, Philadelphia, USA, pp. 1902-1913.
- Entes, M.K., Kapikian, A.Z., 2007. *Virology. Hong Kong, 1917 ó 1952*.
- Eyquem, F, 2016. Roundup Ready® Soyan, n ELISA ile Nicel Saptanmas., <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20TR/bolum12.pdf> (Eri im Tarihi: 18.03.2016).
- Fleet, H.G., Heiskanen, P., Reid, I., Buckle, K.A., 2000. Foodborne viral illness-status in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 127-136.
- Goueva, V., Allen, J.R., Glass, R.I., Fang, Z.Y., Bremont, M., Cohen, J., McCrae, M.A., Saif, L.J., Sinarachatanant, P., Caul, E.O., 1991. Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 519-523.
- Green, K.Y., Chanock, R.M., Kapikian, A.Z., 2001. Human Caliciviruses. In: D.M. and Howley, P.M. (Editors). *Fields Virology*, Philadelphia: Lippincott Williams - Wilkins, pp. 841-874.

- Greening, G.E., 2006. Human and Animal Viruses in Food (Including Taxonomy of Enteric Viruses). *Virusus in Foods*, First Edition. (Ed. Goyal, S.M.), Springer, USA, pp. 5-42.
- Guix, S., Bosch, A., Pinto, R.M., 2005. Human astrovirus diagnosis and typing: Current and future prospects. *Letters in Applied Microbiology*, 41, 103-105.
- Gülen, A., Hac,mustafao lu, M., 2013. Çocuklarda akut infeksiyöz gastroenteritlere genel yakla ,m. *ANKEM Dergisi*, 27(3), 147-157.
- Hasöksüz, M., 2016. Gıda Kaynaklı Viruslar: Hijyen ve Güvenlik. Eri im: http://www.sagliklitavuk.org/assets/userfiles/files/uzmanlardan/Gida_Kaynakli_Virusler_Hijyen_ve_Guvenlik.pdf (Eri im Tarihi:01.03.2016).
- Hassan, A.N., Frank., J.F., 2011. Microorganisms associated with milk. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition. (Editor-in-Chief Fuquay J.W.) Academic Press, USA, pp. 447- 457.
- Hedberg, C.W., Osterholm, M.T., 1993. Outbreaks of food-borne and waterborne viral gastroenteritis. *Clinical Microbiology Reviews*, 6(3), 199-210.
- Herrmann, J.E., Taylor, D.N.,1991. *Echeverria P. Astroviruses* as a cause of gastroenteritis in children. *England Journal of Medicine*, 324, 1757-1760.
- nan, N., Ünsür, K.E., Demirel, A., Mamçu, D., Sönmez, E., Ar,soy, A., 2014. Akut viral gastroenterit öntan,l, vakalarda rotavirus, adenovirus ve norovirus s,kl, ,n,n ara t,r,lmas,. *ANKEM Dergisi*, 28 (1), 14-19.
- Jeong, S.-H., Cho, H.,Yoori Hwang, Y., 2012. Media literacy interventions: A meta analytic review. *Journal of Communication*, 62(3), 454-472.
- Jiang, B., Monroe, S.S., Koonin, E.V., Stine, S.E., and Glass, R.I., 1993. RNA sequence of astrovirus: distinctive genomic organization and a putative retrovirus-like ribosomal frameshifting signal that directs the viral replicase synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90, 10539610543.
- Jones, P.W., 2004. Norovirus and sapovirus. In: Percival S, Chalmers R, Embrey M, Hunter P, Sellwood J (Editors). In *Microbiology of Waterborne Diseases*. California; *Elsevier Academic Pres*, 433-441.
- Kalayc,o lu, L., Serpek, B., Nizaml,o lu, M., Ba p,nar, N., Tiftik, A.M., 2000. Biyokimya, kinci Bask., *Nobel Yay,n Da ,t,m LTD. T .*, Ankara, 624.
- Kapikian, A.Z., 2000. The discovery of the 27-nm Norwalk virüs: An historic perspective. *The Journal of Infectious Diseases*, 181, 295-302.
- Ka ifo lu, N., Us, T., Aslan, G.F., Akgün, Y., 2011. 2005-2011 y,llar, aras,nda saptanan rotavirus antijen pozitiflikleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 41(2), 111-115.

- Kim, A.-N., Park, S.Y., Bae, S.-C., Oh, M.-H., Ha, S.-D., 2014. Survival of norovirus surrogate on various food-contact surfaces. *Food and Environmental Virology*, 6(3), 182-188.
- Kireççi, E., Özer, A., 2011. Noroviruslar, salgınlar, ve mücadele. *Van Tıp Dergisi*, 18 (1), 49-56.
- Koopmans, M., Bonsdorff, C.-H. V., Vinjé, J., Medici, D., Monroe, S., 2002. Foodborne viruses. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2), 187-205.
- Koopmans, M., Duizer, E., 2004. Foodborne viruses: an emerging problem. *International Journal of Food Microbiology*, 90(1),23-41.
- Kurtz, J.B., Lee, T.W., 1987. Astroviruses: human and animal. *Novel Diarrhoea Viruses*, 92-107.
- Levy, K., Hubbard, A.E., Eisenberg, J.N.S., 2009. Seasonality of rotavirus disease in the tropics: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Epidemiology*, 38(6), 1487-1496.
- Loutreul, J., Cazeaux, C., Levert, D., Nicolas, A., Vautier, S., Sauvage, A.L.L., Perelle, S., Morin, T., 2014. Prevalence of human noroviruses in frozen marketed shellfish, red fruits and fresh vegetables. *Food and Environmental Virology*, 6, 1576168.
- Madeley, C.R., Cosgrove, B.P., 1975. 28 nm Particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet*, 2, 451-452.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., 2010. *Brock Mikroorganizmalar, n Biyolojisi*, 11. Bask., (Çev. Ed. Çökmü , C.), Palme Yay,nc,l,k, Ankara, 992s.
- Marks, P.J., Vipond, I.B., Carlisle, D., Deakin, D., Fey, R.E., Caul, E.O., 2000. Evidence for Norwalk-like virüs (NLV) in a hotel restaurant. *Epidemiology and Infection* 124, 481-487.
- Matsui, S. M., and Greenberg, H.B., 1996. Astroviruses, p. 8116824. In B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley, R. M. Chanock, J. L. Melnick, T. P. Monath, B. Roizman, and S. E. Straus (ed.), *Fields Virology*. Lippincott-Raven, Philadelphia, PA.
- Mendes-Toss, M., Griffin, D.D., Calva, J., Contreras, J.F., Puerto, F.I., Mota, F., Guiscafrè, H., Cedillo, R., Moñoz, O., Herrera, I., López, S., Arias, C.F., 2004. Prevalence and genetic diversity of human asrtoviruses in Mexican children with symptomatic and asymptomatic infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 151-157.
- Mitui, M.T., Bozdayi, G., Ahmed, S., Matsumoto, T., Nishizono, A., Ahmed, K., 2014. Detection and molecular characterization of diarrhea causing viruses in single and mixed ,nfections in children: a comparative study between Bangladesh and Turkey. *Journal of Medical Virology*, 86, 115961168.

- Munoz, C.A., 2016. Nuevos virüs productores de EDA. Facultad de Medicina Universidad de Antioquia. <http://slideplayer.es/slide/1697471/> (Erişim Tarihi: 27.03.2016).
- Nazik, H., İktaç, M., Öngen, B., 2006. Çocukluk yaşı grubu gastroenteritlerinde rotavirus sıklığı, önemi ve tedavisi. *ANKEM Dergisi*, 20(4), 233-235.
- Özdemir, S., Delialioğlu, N., Emekdaş, G., 2010. Akut gastroenteritli çocuklarda rotavirus, adenovirus ve astrovirus sıklığı, önemi ve tedavisi, ve epidemiyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44, 571-578.
- Özdemir, M., Demircili, M.E., Feyzioğlu, B., Yavru, S., Baysal, B., 2013. Şişli hastalarda akut viral gastroenterit etkenlerinin araştırılması. *Selçuk Tıp Dergisi*, 29(3), 127-130.
- Öztürk, R., 2008a. Astroviruslar. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Virus Enfeksiyonları. Edited by: Topçu, W.A., Söyletir, G., Doğanay, M. 3. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1838-1841.
- Öztürk, R., 2008b. Noroviruslar. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Virus Enfeksiyonları. Edited by: Topçu, W.A., Söyletir, G., Doğanay, M. 3. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1832-1837.
- Öztürk, R., 2008c. Rotaviruslar. In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Virus Enfeksiyonları. Edited by: Topçu, W.A., Söyletir, G., Doğanay, M. 3. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1720-1727.
- Öztürk, F., 2002. Genel Viroloji. *Selçuk Üniversitesi, Konya*, s: 4-15.
- Papafraqkou, E., DeSouza, D.H., Jaykus, L.-A., 2006. Food-borne Viruses: Prevention and Control. *Virusus in Foods*, First Edition. (Ed. Goyal, S.M.), Springer, USA, pp. 289-330.
- Parashar, U.D., Bresee, J.S., Gentsch, J.R., Glass, R.I., 1998. Rotavirus. *Emerg. Infect. Dis.*, 4, 561-570.
- Patel, M.M., Halla, A.J., Jan, V., Parashar, U.D., 2009. Noroviruses: A comprehensive review. *Journal of Clinical Virology*, 44, 1-8.
- Ramirez, S., Giammanco, G.M., De Grazia, S., Colomba, C., Martella, V., Arista, S., 2008. Genotyping of GII.4 and GIIB norovirus RT-PCR amplicons by RFLP analysis. *Journal of Virological Methods*, 147(2), 250-256.
- Richards, G.P., Watson, M.A., 2001. Immunochemiluminescent focus assays for the quantitation of hepatitis A virus and rotavirus in cell cultures. *Journal of Virological Methods*, 94(1-2), 69-80.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffin, P., M., 2011. Foodborne illness acquired in the United States - Major pathogens. *Emerging Infectious Disease*. DOI: 10.3201/eid1701.P11101.

- Scherer, K., Made, D., Ellerbrock, L., Schulenburg, J., Johne, R., Klein, G., 2009. Application of a swab sampling method for the detection of norovirus and rotavirus on artificially contaminated food and environmental surfaces. *Food and Environmental Virology*, 1, 42-49.
- Siebenga, J.J., Vennema, H., Zheng, D.-P., Vinje, J., Lee, B.E., Pang, X.-L., Ho, E.C.M., Lim, W., Choudekar, A., Broor, S., Halperin, T., Rasool, N.B.G., Hewitt, J., Greening, G.E., Jin, M., Duan, Z.-J., Lucero, Y., O'Ryan, M., Hoehne, M., Schreier, E., Ratcliff, R.M., White, P.A., Iritani, N., Reuter, G., Koopmans, M., 2009. Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. *The Journal of Infectious Diseases*, 200, 802-812.
- Springthorpe, S., Sattar, S., 1998. Handwashing: what can we learn from recent research? *Infect. Control Today*, 2, 20-28.
- Simsek, Y., Bostancı, S., Bozdayı, G., Öner, N., Kamruddin, A., Rota, S., Dallar, Y., 2007. 5 Yaş çocuklarda akut gastroenteritte rotavirüs sıklığı ve serotip özellikleri. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi*, 16(3):165-70.
- Thornton, A.C., Jennings-Conklin, K.S., McCormick, M.I., 2004. Noroviruses: Agents in outbreaks of acute gastroenteritis. *Disaster Management Response*, 2(1), 4-9.
- Todd, E.C., Greig, J.D., Bartleson, C.A., 2007. Michaels BS. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors contributing to outbreaks and description of outbreak categories. *Journal of Food Protection*, 70, 2199-2217.
- Ustaçelebi, S., 2004. Viruslar, genel, moleküler yapı ve özellikleri. *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*, Birinci Baskı. (Ed. Ustaçelebi, S., Abacıoğlu, H., Badur, S.) Güne Kitabevi Ltd. ti., Ankara, 1-12s.
- Uyar, Y., Çarhan, A., Özkaya, E., Ertek, M., 2008. Türkiye'de 2008 yılında ortaya çıkan ilk norovirus salgını laboratuvar sonuçları ve değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 42, 607-615.
- Vasickova, P., Dvorska, L., Lorencova, A., Palvic, I., 2005. Viruses as a cause of foodborne diseases: A review of the literature. *Veterinari Medicina*, 50(3), 89-104.
- Walker-Smith, J.A., Harrison, M., Kilby, A., Phillips, A.D., France, N.E., 1978. Cows' milk sensitive enteropathy. *Archives of Disease in Childhood*, 53: 375.
- WHO, 2008. The Global Burden of Disease. 2004 update.
- WHO, 2016. Health topics: Diarrhoea. <http://www.who.int/topics/diarrhoea/en/> (Erişim Tarihi: 01.03.2016)
- Wilhelmi, I., Roman, E., Sánchez-Fauquier, A., 2003. Viruses causing gastroenteritis. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(4), 247-262.

Yarkın, F., 2004. Gastroenterit virusları. *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*, Birinci Baskı. (Ed. Ustaçelebi, İ., Abacıoğlu, H., Badur, S.) Güne Kitabevi Ltd. ti., Ankara, 245-258.

Yaprak, D., 2011. İmmünkompetan Erikinler ve İmmünespresif Tedavi Alanlarda Norovirus Enfeksiyonunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, Türkiye.

Yılmaz, A., Bostan, K., Altan, E., Muratoglu, K., Turan, N., Tan, D., Helps, C., Yılmaz, H., 2011. Investigations on the frequency of norovirus contamination of ready-to-eat food items in Istanbul, Turkey, by using real-time reverse transcription PCR. *Journal of Food Protection*, 5, 700-864.



ÖZGEÇM

Ad, Soyad, : Hatice AYDO AN
Do um Yeri : Afyonkarahisar
Do um Tarihi : 02.01.1983
Yabanc, Dili : İngilizce



E itim Durumu

Lise : Mehmetçik Lisesi YDAL, Ankara / 2001
Lisans : Akdeniz Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Burdur / 2008
Yüksek Lisans : Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Burdur / 2016

Çalıştığı Kurum

2009- : Burdur Güçbirliği Gıda Sanayi Ticaret A.Ş.